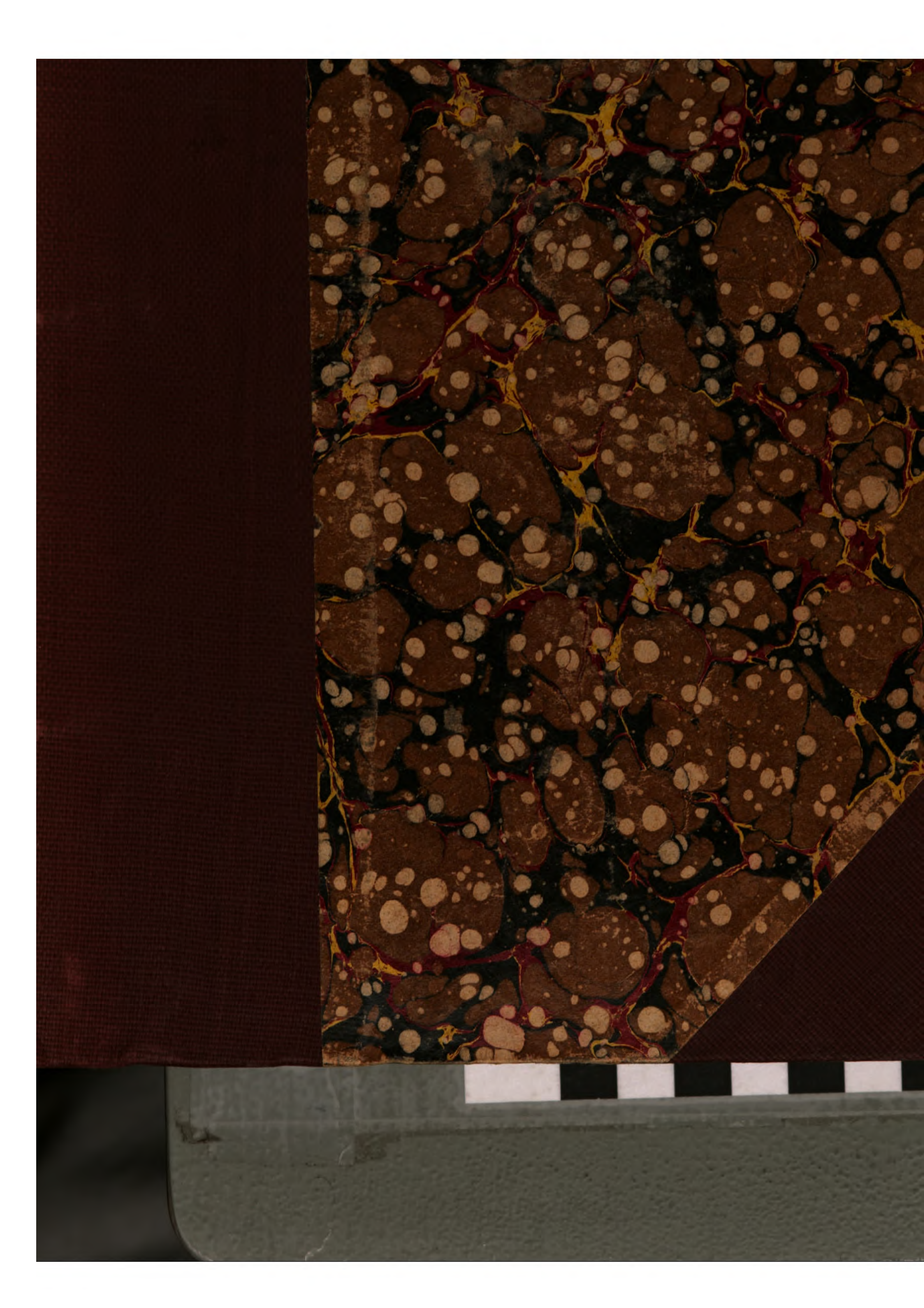
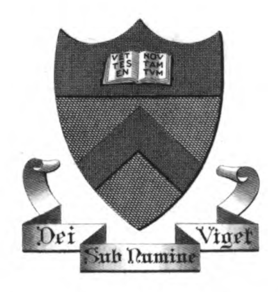
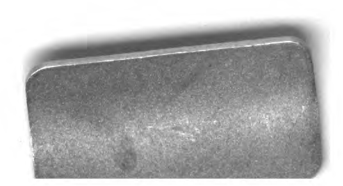
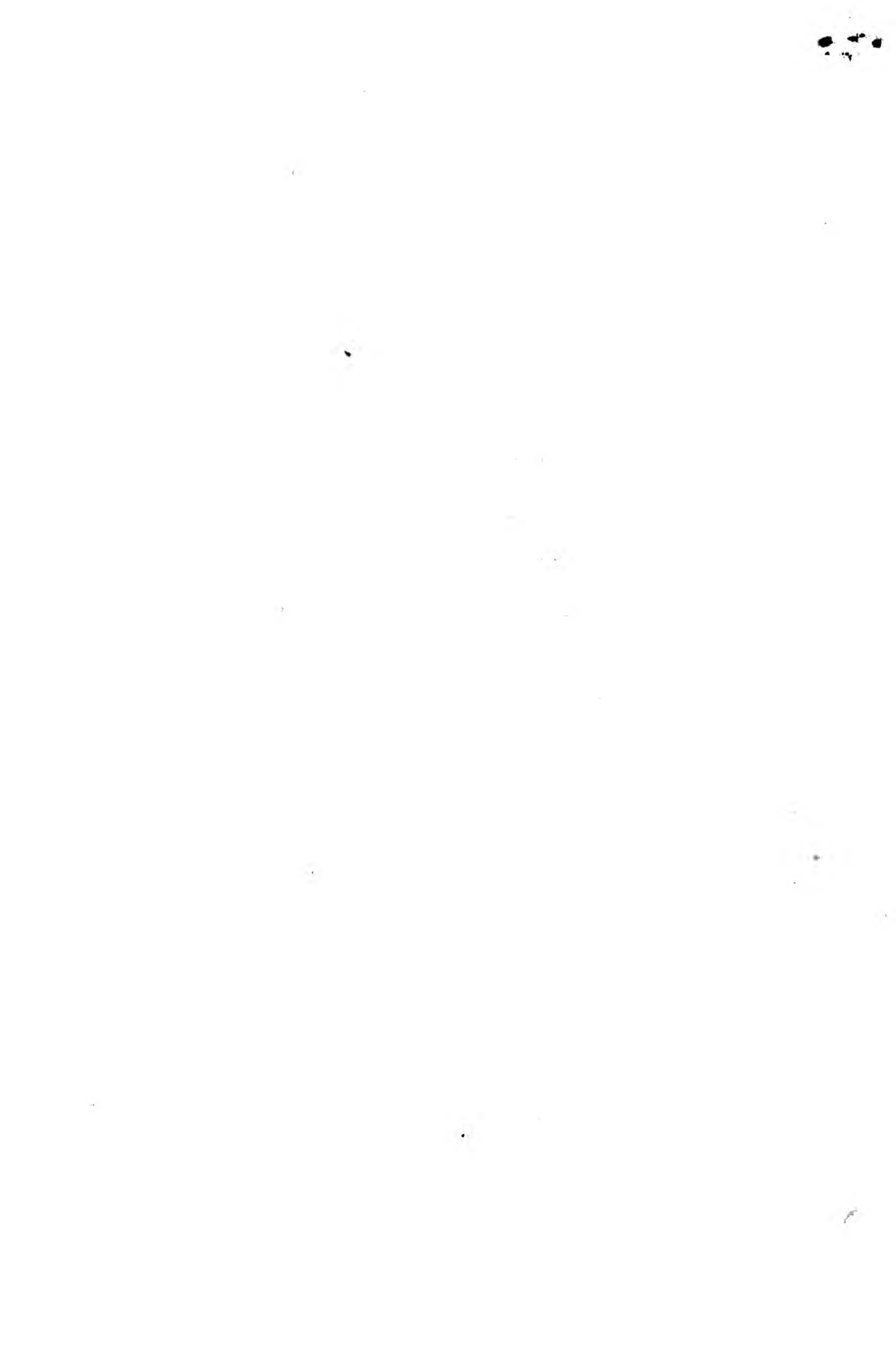



8617
.181




VET TES EN
NOV TAM TVM
Dei
Sub Numine
Viget









Biochemische Zeitschrift.

Beiträge zur chemischen Physiologie und Pathologie.

Herausgegeben von

F. Hofmeister-Straßburg i. Els., C. von Noorden-Frankfurt a. M., E. Salkowski-Berlin, A. von Wassermann-Berlin, N. Zuntz-Berlin

unter Mitwirkung von

M. Ascoli-Catania, **L. Asher**-Bern, **G. Bertrand**-Paris, **A. Bickel**-Berlin, **F. Blumenthal**-Berlin, **A. Bonanni**-Rom, **F. Bottazzi**-Neapel, **G. Bredig**-Karlsruhe i. B., **A. Durig**-Wien, **F. Ehrlich**-Breslau, **H. v. Euler**-Stockholm, **J. Feigl**-Hamburg, **S. Flexner**-New York, **J. Forssman**-Lund, **S. Fränkel**-Wien, **E. Freund**-Wien, **H. Freundlich**-Berlin-Dahlem, **E. Friedberger**-Greifswald, **E. Friedmann**-Berlin, **O. v. Fürth**-Wien, **G. Galeotti**-Neapel, **F. Haber**-Berlin-Dahlem, **H. J. Hamburger**-Groningen, **P. Hári**-Budapest, **A. Heffter**-Berlin, **V. Henri**-Paris, **V. Henriques**-Kopenhagen, **W. Heubner**-Göttingen, **R. Höber**-Kiel, **M. Jacoby**-Berlin, **A. Koch**-Göttingen, **M. Kumagawa**-Tokio, **F. Landolf**-Buenos Aires, **L. Langstein**-Berlin, **P. A. Levene**-New York, **L. v. Liebermann**-Budapest, **J. Loeb**-New York, **A. Loewy**-Berlin, **A. Magnus-Levy**-Berlin, **J. A. Mandel**-New York, **L. Marchlewski**-Krakau, **P. Mayer**-Karlsbad, **J. Meisenheimer**-Greifswald, **L. Michaelis**-Berlin, **H. Molisch**-Wien, **J. Morgenroth**-Berlin, **E. Münzer**-Prag, **W. Nernst**-Berlin, **W. Ostwald**-Leipzig, **W. Palladin**-St. Petersburg, **W. Pauli**-Wien, **R. Pfeiffer**-Breslau, **E. P. Pick**-Wien, **J. Pohl**-Breslau, **Ch. Porcher**-Lyon, **P. Rona**-Berlin, **S. Salaskin**-St. Petersburg, **N. Sieber**-St. Petersburg, **M. Siegfried**-Leipzig, **S. P. L. Sörensen**-Kopenhagen, **K. Spiro**-Straßburg, **E. H. Starling**-London, **J. Stoklasa**-Prag, **W. Straub**-Freiburg i. B., **A. Stutzer**-Königsberg i. Pr., **H. v. Tappeiner**-München, **H. Thoms**-Berlin, **P. Trendelenburg**-Rostock, **A. J. J. Vandevelde**-Gent, **O. Warburg**-Berlin, **W. Wiechowski**-Prag, **A. Wohl**-Danzig, **J. Wohlgemuth**-Berlin.

Redigiert von

C. Neuberg-Berlin.

Siebenundneunzigster Band.



Berlin.
Verlag von Julius Springer.
1919.

Inhaltsverzeichnis.

Zur Kenntnis der Oxydationsvorgänge im menschlichen Organismus.

Von

Walter Lasch.

(Aus der chemischen Abteilung des pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 20. Mai 1919.)

Das Oxydationsvermögen des Organismus für in ihn eingeführte Substanzen ist ein zum Teil sehr weitgehendes — natürlich kommen hierbei nur solche Substanzen in Frage, die resorbierbar sind, bzw. der Anteil, der resorbiert wird.

Es ist für Eiweißstoffe — abgesehen vom Eiweiß, wenn es in sehr großen Mengen eingeführt wird — anscheinend unbegrenzt. Nicht so ganz für Kohlenhydrate. Hier hat u. a. Hofmeister[1]) an Hunden über die Assimilationsgrenze der einzelnen Zuckerarten Versuche angestellt, auf Grund derer er zu dem Ergebnis kam, daß

1. die verschiedenen untersuchten Zuckerarten (Dextrose, Lävulose, Rohrzucker und Milchzucker), im Übermaß genossen, zur Ausscheidung von Zucker mit dem Harn Veranlassung geben können, somit unter diesen Umständen nicht vollständig oxydiert werden; daß
2. die Assimilationsgrenze für dasselbe Individuum und die gleiche Zuckerart zu verschiedenen Zeiten annähernd dieselbe ist; daß
3. sie jedoch bei demselben Individuum für die einzelnen Zuckerarten verschieden ist; daß
4. die Menge des durch die Nieren ausgeschiedenen Zuckers sich mit Erhöhung der Zuckerzufuhr steigert; daß
5. jedoch nicht die gesamte über die Assimilationsgrenze hinaus zugeführte Zuckermenge zur Ausscheidung kommt, sondern nur ein kleiner Bruchteil derselben.

Weit geringer ist das Oxydationsvermögen des Organismus für heterogene Substanzen, falls diese überhaupt resorbierbar sind. Für

[1]) Hofmeister, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. 25, 240, 1889.

Benzol und Abkömmlinge desselben haben Nencki und Giacosa[1]) Versuche an Hunden angestellt, in denen sie nachwiesen, daß die geprüften Kohlenwasserstoffe nur zum geringsten Teile oxydiert wurden. Bei Äthylbenzol z. B. entsprach die Menge der erhaltenen Benzoesäure (bzw. Hippursäure) nur etwa einem Sechstel des verabfolgten Kohlenwasserstoffs. Der größere Teil der geprüften Stoffe wird nach Ansicht der Verfasser vermutlich nicht resorbiert oder durch die Lungen ausgeschieden. Weitere Versuche liegen vor, von E. Tauber für Phenol an Hunden angestellt[2]). Tauber kommt zu dem Ergebnis, daß ein Teil des eingeführten Phenols vom Organismus nicht wieder als Phenolschwefelsäure ausgeschieden, also wohl oxydiert wird. „Nur bei sehr kleinen Dosen wird fast alles oxydiert, bei größeren Dosen dagegen bleibt ein erheblicher Anteil des Phenols unangegriffen, der abhängt von der Menge des eingegebenen, derart, daß mit der Vermehrung der Dosis der absolute Wert für den oxydierten Anteil zwar fortdauernd steigt, der relative dagegen sinkt." Ähnliche Resultate wurden von Schaffer[3]) erhalten.

Auf Veranlassung von Herrn Geheimrat Salkowski habe ich an mir selbst Versuche darüber angestellt, ob sich ähnliche Gesetzmäßigkeiten auch für die Oxydation von Natriumthiosulfat ergeben würden.

Das Natriumthiosulfat findet sich — wenn auch nicht konstant — im Hunde- und Katzenharn[4]); im Kaninchenharn kommt es — wenigstens nach den bisherigen Erfahrungen — nur nach Fütterung der Tiere mit Weißkohl vor, während es bei Fütterung mit Mohrrüben, Hafer und Luzerne, Kartoffeln und Milch fehlt[5]). Was den Menschen betrifft, so liegen Angaben über das Vorkommen des Thiosulfats im normalen Harn nur von Heffter[6]) vor, während andere Forscher — z. B. Salkowski — das Vorkommen bestreiten. Ich selbst habe in meinen Versuchen im normalen Harn nie Thiosulfat feststellen können. Über einen Fall von Thiosulfat im Harn eines Typhuskranken berichtet Strümpell[7]).

Von experimentellen Versuchen, bei denen Thiosulfat im Harn ge-

---

[1]) M. Nencki und P. Giacosa, Zeitschr. f. physiol. Chem. **4**, 325.

[2]) E. Tauber, Zeitschr. f. physiol. Chem. **2**, 366.

[3]) Fr. Schaffer, Journ. f. prakt. Chem. **18**, 282.

[4]) Schmiedeberg, Arch. f. Heilk. **8**, 422.

[5]) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. **89**, 485; **92**, 89. Diese Zeitschr. **79**, 68.

[6]) Heffter, Arch. f. d. ges. Physiol. **38**, 476.

[7]) Strümpell, Arch. f. Heilk. **17**, 390.

funden wurde, liegen Angaben von Salkowski vor[1]). S. konnte nach Einführung von Taurin, Isäthionsäure und amidomethylschwefliger Säure per os Thiosulfat im Harn nachweisen. Auch Heffter[2]) fand Thiosulfat nach Einführung von Schwefel, Schwefelnatrium und Sulfonsäuren. Dagegen konnte Presch[3]) Thiosulfat im Harn bei Aufnahme von Schwefel in einem Selbstversuch nicht feststellen. Wohlgemut[4]) fand Thiosulfat im Kaninchenharn nach Einführung von Cystin, Fr. Simon[5]) nach Zufuhr von aldehydschwefliger Säure.

Versuche, bei denen Thiosulfat selbst eingeführt wurde, wurden von Salkowski an Kaninchen angestellt[6]). Das innerlich sowie subcutan eingeführte Natriumthiosulfat wurde zum größten Teil zu Schwefelsäure oxydiert; ein kleiner Teil wurde unverändert ausgeschieden. Zu ähnlichen Ergebnissen kam Trachtenberg[7]) in einem Selbstversuch. Trachtenberg nahm in 8 Tagen mit unregelmäßig eingeschobenen eintägigen Zwischenpausen das Salz in Dosen von 4,0 bis 40,0 täglich und bestimmte die Menge der im 24stündigen Harn ausgeschiedenen Schwefelsäure. Der Harnstickstoff wurde von ihm nicht bestimmt. Es fand sich an den Tagen, an denen das Salz genommen war, im Harn ein Überschuß an Schwefelsäure, der bei der Aufnahme kleinerer Mengen relativ größer war als beim Gebrauch von größeren. Trachtenberg führt diese Tatsache darauf zurück, daß infolge der bei Aufnahme größerer Dosen mehr oder minder heftig auftretenden Diarrhöen ein Teil des Salzes nicht resorbiert wurde. Beim Gebrauch der großen Dosen stieg aber die Vermehrung der Schwefelsäure absolut höher. In dem nach Genuß von 40,0 unterschwefligsaurem Natron entleerten Harn konnte Trachtenberg sowohl durch Zusatz von Salzsäure — der Harn trübte sich durch Abscheidung von Schwefel — als auch durch Zusatz von Quecksilberchlorid Natriumthiosulfat feststellen. Mittels der Quecksilberchloridprobe war eine geringe Menge des Salzes im Harn auch noch nach Aufahme von 18,0 nachweisbar[8]).

Da nach all diesen Versuchen zu erwarten war, daß auch in meinen Versuchen Natriumthiosulfat im Harn unverändert

---

[1]) Salkowski, Virchows Archiv **58**, 460; **66**, 315. Arch. f. d. ges. Physiol. **39**, 209. Diese Zeitschr. **87**, 178.

[2]) Heffter, Arch. f. d. ges. Physiol. **38**, 476.

[3]) Presch, Virchows Archiv **58**, 483.

[4]) Wohlgemut, Zeitschr. f. physiol. Chem. **40**, 81.

[5]) Simon, diese Zeitschr. **87**, 143.

[6]) Salkowski, Virchows Archiv **58**, 483. Zeitschr. f. physiol. Chem. **92**, 93.

[7]) Trachtenberg, Zur Frage über die Neutralisation überschüssiger Alkalien im Blute. Dissertation Dorpat 1861.

[8]) Mir lag nur das Referat der Arbeit Trachtenbergs in Schmidts Jahrbüchern **126**, 9 vor — und zwar erst nach Abschluß des eigenen Versuches. Die Dissertation selbst war nirgends zu erhalten.

ausgeschieden werden würde, so war es notwendig, sich über die Methoden, die zum Nachweise des Thiosulfats im Harn führen, klar zu werden. Ich entschied mich im vorliegenden Falle für drei Methoden: die Silber-, die Quecksilber- und die Destillationsmethode.

Die Reaktion mit Silberlösung ist von Salkowski in der Zeitschr. f. physiol. Chem. 89, 487 sowie 92, 93 näher beschrieben und ihre Brauchbarkeit für Kaninchenharn dortselbst erwiesen worden. Salkowski sagt an der betreffenden Stelle[1]: „Versetzt man den Harn (Kaninchenharn) mit etwa dem gleichen Volumen 3 %iger Silbernitratlösung, so sieht man, daß der im ersten Moment gelblichweiße Niederschlag sich schnell zitronengelb, dunkelgelb, orange, braunrot resp. braun färbt, genau so wie eine recht verdünnte Lösung von Thiosulfat. Schwarzfärbung ist in der Regel erst am folgenden Tage zu bemerken. Der aus dem thiosulfatfreien Harn erhaltene Silberniederschlag bleibt zunächst ganz unverändert, nimmt dann allmählich eine graugelbe Farbe an.“ An anderer Stelle[2]) schildert Salkowski einen Serienversuch, bei dem die Harnproben — 8 bis 10 ccm — in nebeneinanderstehende Reagensgläser gegossen, dann 3 %ige Silbernitratlösung hinzugesetzt — etwa $^1/_2$ bis $^2/_3$ des Volumens — und die Farbe des Niederschlags sofort und nach $^1/_4$ bis $^1/_2$ Stunde vergleichend geprüft wurden. Hier gibt Salkowski noch eine Verfeinerung der Probe an: Findet man nach 24stündigem Stehen die thiosulfathaltigen, sowie die thiosulfatfreien Proben schwarz, so gießt man die über dem Niederschlag stehende Flüssigkeit, so gut es geht, ab, setzt etwa das gleiche Volumen Salpetersäure an 1,2 D hinzu und erwärmt gelind bis zum beginnenden Sieden; es zeigen sich dann die Niederschläge aus dem thiosulfatfreien Harn fast weiß, die aus dem thiosulfathaltigen grau bis schwarz. Durch die beschriebene Art der Reaktionsanstellung konnte Salkowski in 8 bis 10 ccm einer Lösung von 1 g Natriumthiosulfat auf 20000 Harn die Thioschwefelsäure noch deutlich nachweisen; zwar zeigten die betreffenden Niederschläge keine Braunfärbung mehr, doch ließ die entstehende Gelbfärbung keinen Zweifel an dem Vorhandensein des Thiosulfats.

---

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 89, 487.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 92, 93.

Salkowski hatte die Proben an mit Essigsäure versetzten filtrierten und dann in Glasstöpselflaschen aufbewahrten Kaninchenharnen einerseits sofort, andererseits erst mehrere Tage nach Abschluß der ganzen Versuchsreihe angestellt. Für mich kam es nun darauf an, die Brauchbarkeit der Methode für Menschenharn — und zwar für mit Chloroform konservierten, mindesten 5 Wochen alten Menschenharn — zu erweisen; denn da die laufenden Bestimmungen — Stickstoff-, Schwefelsäure- usw. Bestimmungen — die mir im Laboratorium zur Verfügung stehende Zeit vollkommen in Anspruch nahmen, so konnte ich erst nach Abschluß der ganzen Versuchsreihe an den Nachweis des Thiosulfats in den mit Chloroform konservierten Harnen herantreten.

Es zeigte sich, daß die beschriebene Methode auch für mit Chloroform konservierten Menschenharn — und zwar zum Nachweis von außerordentlich geringen Mengen Thiosulfat — brauchbar ist; aber nur, wenn zwei Bedingungen genau erfüllt werden. Erstens ist es notwendig, Silbernitrat im Überschuß, d. h. mehr Silbernitrat, als zur völligen Sättigung der Harnchloride erforderlich ist, hinzuzusetzen; erst wenn sämtliche Chloride abgesättigt sind, tritt die von Salkowski beschriebene Braunfärbung auf[1]). Diese Erscheinung ist um so auffallender, als bei starken Konzentrationen — z. B. bei Anwendung einer 10⁰/₀igen Lösung — ein schwarzer Niederschlag schon vor völliger Absättigung der Chloride ausfällt. Zweitens muß zum Nachweis von ganz geringen Mengen Thiosulfat statt einer wäßrigen eine mit Salpetersäure angesäuerte Lösung von Silbernitrat benutzt werden. Es zeigte sich nämlich, daß regelmäßig durch Zusatz einer wäßrigen Lösung von Silbernitrat zu mit

---

[1]) Wie ich nachträglich fand, hat auch Wohlgemut (Zeitschr. f. physiol. Chem. 40, 81 bzw. 86) bei Verwendung von Kaninchenharn eine hemmende Wirkung der Chloride auf den Eintritt der Reaktion feststellen können. Es gelang ihm, durch Erwärmen diese Hemmung zu beseitigen.

Auch bei dem von A. Strümpell zitierten Typhusfall wurde die unterschweflige Säure im Harn zufällig dadurch entdeckt, daß bei der Chlortitration als Endreaktion statt des orangeroten Niederschlags von Silberchromat ein schmutziger, sehr bald schwarz werdender auftrat. (Arch. f. Heilk. 17, 390.)

Chloroform konserviertem, mindestens 5 Wochen altem normalem Menschenharn nach Absättigung sämtlicher Chloride plötzlich eine Gelbfärbung des vorher weißen Niederschlags eintrat. Frischer Menschenharn — auch frischer Chloroformharn — zeigt diese Erscheinung nicht. Wird — evtl. nach Abgießen der über dem Niederschlag stehenden Flüssigkeit — Salpetersäure hinzugesetzt, oder wird von vornherein eine mit Salpetersäure angesäuerte Lösung von Silbernitrat verwendet, so schwindet die gelbe Färbung des Niederschlags wieder zugunsten einer weißen bzw. entsteht erst gar nicht. Anscheinend handelt es sich hierbei um die Bildung von in Salpetersäure löslichem Silberphosphat. Warum diese Bildung in frischem Harn und frischem Chloroformharn nicht ebenso vor sich ging, habe ich nicht ermitteln können. Die Gelbfärbung muß unbedingt zum Schwinden gebracht werden, einerseits deshalb, weil sie eine eichte Bräunung des Niederschlags durch Thiosulfat vollkommen übertönt — bei stärkerem Gehalt an Thiosulfat überwiegt die Braunfärbung — andererseits aber auch, weil nach Salkowski eine Gelbfärbung auf Spuren von Thiosulfat hinweist.

Wenn ich die beiden oben beschriebenen Bedingungen genau innehielt — ich setzte im allgemeinen zu 3 ccm Harn eine mit Salpetersäure angesäuerte etwa 3%ige Silberlösung im Überschuß hinzu — so konnte ich noch bei einer Verdünnung von 1:40000 eine zwar leichte, aber deutliche Bräunung beobachten; ja selbst bei einer Verdünnung von $^1/_{80000}$ war ein schwacher Unterschied beim Vergleich der aus dem thiosulfathaltigen und thiosulfatfreien Harne erhaltenen Niederschläge zu erkennen. Die von Salkowski angegebene Erhöhung der Empfindlichkeit der Reaktion durch nachträgliches Erhitzen mit Salpetersäure kann ich bestätigen; vor allem in solchen Fällen, in denen der zur Kontrolle herangezogene thiosulfatfreie Harn beim Versetzen mit einer mit Salpetersäure angesäuerten Lösung von Silbernitrat sogleich einen leicht violett getönten Niederschlag gibt — eine Beobachtung, die ich bei alten, mit Chloroform konservierten Harnen vereinzelt machen konnte — ist das nachträgliche Erhitzen mit Salpetersäure von ausschlaggebender Bedeutung.

Für den Nachweis des Thiosulfats im Harn mittels Zusatz von $HgCl_2$ ist folgende Form der Anstellung der Reaktion

von Salkowski beschrieben worden[1]. „50 ccm Harn — man kommt auch mit weniger aus — werden auf dem Drahtnetz zum Sieden erhitzt, und mit einer Pipette tropfenweise allmählich Quecksilberchlorid hinzugesetzt: es entsteht sofort ein schmutziggrau gefärbter Niederschlag, der bei weiterem Sieden schwarz oder grünlichschwarz wird. Um zu zeigen, daß es sich um Quecksilbersulfid handelt, setzt man etwa die Hälfte bis zwei Drittel des Volumens Salpetersäure hinzu; es tritt fast gar keine Veränderung ein, man kann sogar noch ein wenig weiter erhitzen; fügt man nun aber Salzsäure hinzu, so wird die Mischung sofort klar mit gelber Farbe. Zu lange wird man freilich mit Salpetersäure nicht erhitzen dürfen, da der Harn ja Chloride enthält. Man kann auch die — allerdings sehr geringe — Quantität des gebildeten Quecksilbersulfids nach dem Zusatz von Salpetersäure isolieren — sei es durch Dekantieren, sei es durch Filtrieren und Auswaschen auf dem Filter und dann das Verhalten zu Salpetersäure allein und nach nachträglichem Zusatz von Salzsäure, sowie den Quecksilbergehalt der entstandenen Lösung durch Zinnchlorür feststellen.“ Bezüglich der Empfindlichkeit der Reaktion in reinen Lösungen von Thiosulfat gibt Salkowski an, daß die Grenze etwa bei 1 : 20000 liegt, wenn man 25 ccm dieser Lösung anwendet. Zwar erhielt Salkowski bei einer solchen Verdünnung keine Schwärzung der Flüssigkeit, dieselbe wurde vielmehr erst gelb, dann bräunlich und opak, bei längerem Stehen schieden sich auch schwarze Flöckchen von HgS ab. Weiter empfiehlt Salkowski, nicht gesättigte Lösung von Quecksilberchlorid anzuwenden, sondern etwa 4fach verdünnte und auch dann mit dem Zusatz von $HgCl_2$ vorsichtig zu verfahren.

Für die vorliegende Aufgabe, den Nachweis von sehr geringen Mengen Thiosulfat in altem, mit Chloroform konserviertem Menschenharn, hat sich die Quecksilbermethode als nicht empfindlich genug herausgestellt. Größerer Gehalt an Thiosulfat macht sich ohne weiteres durch Schwarzfärbung der Flüssigkeit kenntlich. Schwache Lösungen, z. B. solche von $^1/_{20000}$, bei denen durch Zusatz von $HgCl_2$ nur eine opake Trübung und bei längerem Stehen eine Ausscheidung von schwarzen Flöckchen

[1]) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. 89, 488.

entsteht, lassen sich dagegen von thiosulfatfreien Harnproben nicht unterscheiden; denn beide Erscheinungen, eine — wenn auch etwas schwächere — Trübung sowohl, wie auch die Ausscheidung von schwarzen Flöckchen bei längerem Stehen treten auch bei normalen frischen, sowie mit Chloroform konservierten Harnen auf.

Der Nachweis der Spaltungsprodukte des Thiosulfats mittels Destillation des Harns nach Zusatz von Salzsäure ist zuerst von Salkowski in Virchows Archiv 58, 466 erwähnt, später von demselben Verfasser näher beschrieben worden[1]). Die Methode wurde dann von Presch[2]), der unter Salkowskis Leitung arbeitete, einer sorgfältigen Prüfung unterzogen und später von Salkowski selbst[3]) in Einzelheiten modifiziert. Salkowski gibt schließlich folgendes Verfahren an[3]). 100 ccm Harn — oder besser, um auch Spuren von Thiosulfat nicht zu übersehen, 250 ccm — werden mit 10 ccm bzw. 25 ccm oder etwas mehr Salzsäure (25%ige) auf dem Drahtnetz destilliert. Dabei entsteht ein weißlicher Anflug von Schwefel im oberen Teil des Kühlrohres. Fängt man nun die ersten Kubikzentimeter des Destillats für sich auf — etwa 5 bis 7 —, so läßt der stechende Geruch und die Reaktion mit Nitroprussidnatrium, Zinksulfat und Ferrocyankalium[4]) wohl keinen Zweifel: die durch die genannten Reagenzien entstehende Rotfärbung ist zwar nicht intensiv, aber doch deutlich wahrnehmbar. Destilliert man aber etwa die Hälfte ab und prüft dann das Destillat, so ist diese Reaktion nicht mehr wahrnehmbar. Salkowski konnte mittels dieses Verfahrens Thiosulfat in menschlichem Harn noch in einer Verdünnung von 1 : 10000 bei Anwendung von 100 ccm Flüssigkeit deutlich nachweisen, aber nur wenn dieser Harn auf das ungefähre spezifische Gewicht des Kaninchenharns bei Fütterung mit wasserreichen Vegetabilien, etwa 1007, verdünnt war[5]).

Das angegebene Verfahren hat sich auch für den Nachweis sehr geringer Mengen Thiosulfats in mit Chloroform kon-

---

[1]) Salkowski, Arch. f. d. ges. Physiol. **39**, 213.
[2]) Presch, Virchows Archiv **119**, 149.
[3]) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. **89**, 489; **92**, 90, 91.
[4]) Treadwell, Qualitative Analyse. 6. Aufl., S. 308.
[5]) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. **89**, 502.

serviertem menschlichem Harn als brauchbar erwiesen. Doch hatte ich bei meinen Versuchen von vornherein vorgezogen, vor dem Destillieren das Chloroform aus dem Harn zu entfernen, da sonst zu befürchen war, daß die überdestillierenden Chloroformdämpfe die Bildung des Schwefelanflugs durch Auflösen desselben verhindern würden. Die Entfernung des Chloroforms geschah im allgemeinen mittels $^1/_2$ stündigen Erhitzen des Harns auf etwa 90° oder — seltener — durch ebenso langes Luftdurchtreiben. Daß durch beide Verfahren das Thiosulfat nicht — oder wenigstens nicht in nennenswerter Weise — verändert wird, geht daraus hervor, daß sich bei Anwendung von 250 ccm Harn und etwa 25 ccm Salzsäure (25 $^0/_0$) noch bei einer Verdünnung von 1 : 40000 ein ganz schwacher, aber — vor allem beim Betrachten gegen einen schwarzen Hintergrund — deutlich erkennbarer Schwefelanflug zeigte. Selbst noch stärkere Verdünnungen zeigen leichte Andeutungen eines Schwefelanflugs, doch werden diese vielleicht nicht geübten Beobachtern, die vor allem die Stellen, an denen der Schwefelanflug zuerst auftritt, nicht kennen, leicht entgehen. Auch die oben beschriebene SO_2-Reaktion bei Prüfung des Destillats mit Zinksulfat, Nitroprussidnatrium usw. erwies sich als recht empfindlich. Selbst bei Verdünnungen von 1 : 40000 und noch schwächeren Konzentrationen war, wenn ich die ersten 10 ccm des Destillats untersuchte, eine deutliche, einige Zeit bleibende Rosafärbung zu beobachten; Destillate normaler Harne zeigen infolge ihres Gehaltes an Spuren SO_2 bei Zusatz der angeführten Reagenzien zwar auch eine sofort auftretende schwache Rosafärbung; doch verschwindet dieselbe ebenso schnell wieder — innerhalb weniger Sekunden — und es bleibt nur eine milchigweiße Trübung bestehen. Bemerkenswert ist vielleicht noch folgende Beobachtung. Bei den ersten Versuchen ergaben regelmäßig sämtliche frischen sowie mit Chloroform konservierten thiosulfatfreien Harne bei der Destillation mit Salzsäure einen deutlichen Schwefelbelag im Kühlrohr; auch die Destillate dieser Harne zeigten bei Anstellung der SO_2-Reaktion deutliche, bleibende Rosafärbung. Als Ursache dieser eigentümlichen Beobachtung wurde schließlich ein Gummistopfen entdeckt, der das gläserne Verbindungsrohr zwischen Destillierkolben und Kühlrohr an letzterem befestigte. Sobald der Gummistopfen

heiß wurde, traten die oben beschriebenen Erscheinungen auf. Nach Ersatz des Gummis durch Kork blieben die Erscheinungen bei normalen Harnen regelmäßig aus.

Im Anschluß an diese Vorversuche möchte ich noch einen Versuch schildern, der mit der vorliegenden Aufgabe zwar nur lose zusammenhängt, den ich aber dennoch, da er zu einigen bemerkenswerten Ergebnissen geführt hat, nicht unerwähnt lassen möchte. Schon im Jahre 1886 machte Salkowski[1]) darauf aufmerksam, daß die gewöhnliche Annahme, Schwefelwasserstoff und schweflige Säure könnten nicht gleichzeitig in einer wäßrigen Lösung existieren, sondern zersetzten sich zu Schwefel und Wasser, nicht vollkommen richtig sei. Er konnte nachweisen, daß verdünnte Lösungen von schwefliger Säure und Schwefelwasserstoff sich beim Durchschütteln zwar zersetzen, Reste beider Verbindungen aber immer nachweisbar bleiben, es sei denn, daß eine derselben in sehr überwiegender Menge zugegen war. Im Zusammenhange mit diesem Befunde weist Salkowski an gleicher Stelle auf die Tatsache hin, daß edes aus unterschwefligsäurehaltigem Hundeharn durch Erhitzen mit Salzsäure erhaltene Destillat neben SO_2 stets H_2S enthält Diese eigentümliche Erscheinung wurde durch Presch[2]) einer genaueren Untersuchung unterworfen. Presch, der eine Anzahl wäßriger Lösungen von verschiedenem Gehalt an $Na_2S_2O_3$ mit Salzsäure destillierte, fand, daß bei Lösungen von 5 $^0/_0$ und darüber im Destillat keine Spur von H_2S auftrat; erst wenn die Konzentration der Lösung unter 1 $^0/_0$ sank, war neben schwefliger Säure stets H_2S im Destillat nachweisbar. Presch fährt dann weiter fort: „Wird nun aber die Konzentration der unterschwefligen Säurelösung noch geringer, also etwa unter $^1/_{5000}$ bis $^1/_{10000}$ unterschwefligsaures Natron (0,05 bis 0,01 g in 100 ccm Wasser), so tritt im Destillat die schweflige Säure immer mehr zurück, der Schwefelwasserstoff tritt immer mehr in den Vordergrund, dergestalt, daß bei einem Gehalt von $^1/_{100000}$ schweflige Säure nicht mehr vorhanden, wohl aber neben dem Beschlag im Kühlrohr stets H_2S als Destillationsprodukt nachweisbar ist.“ Übrigens soll hier nicht unerwähnt bleiben,

---

[1]) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. **10**, 106 bzw. 108.

[2]) Presch, Virchows Archiv **119**, 148 bzw. 150.

daß auch normaler Harn beim Kochen mit Säuren H_2S entwickelt, daß im Destillat jedoch gewöhnlich keine oder doch nur verschwindende Quantitäten H_2S enthalten sind[1], [2].

Die von mir gewählte Versuchsanordnung war folgende: von 5 Erlenmeyerkölbchen (A, B, C, D, E) wurde einer — A — mit 25 ccm thiosulfatfreiem Harn, die übrigen mit je 25 ccm Thiosulfatharn von verschiedener Konzentration ($B = {}^1/_{5000}$, $C = {}^1/_{2000}$, $D = {}^1/_{1000}$, $E = {}^1/_{20} = 5\,^0/_0$) beschickt. (Es handelte sich um mit Chloroform konservierte Harne.) Darauf wurden je 2,5 ccm Salzsäure ($25\,^0/_0$) hinzugesetzt und die Kölbchen rasch mit einem Korken, an dessen unterer Fläche ein zusammengefalteter mit basisch-essigsaurem Blei getränkter Streifen Filtrierpapier befestigt war, geschlossen. Die Kölbchen wurden dann bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Das Ergebnis des Versuchs ist in folgender Tabelle niedergelegt.

Tabelle I.

	A normal	B $^1/_{5000}$	C $^1/_{2000}$	D $^1/_{1000}$	E 5%
Nach $^1/_4$ Std.	0	0	0	Deutl. Bräunung bis Schwärzung[4])	0
„ 1 „	0	0	Leichte Bräunung des Bleipapiers[4])	—	0
„ 24 „	0	0	—	—	0
Im Thermostaten nach 24 Std.	Deutliche Bräunung[3])	Ganz leichte Bräunung des unteren Randes des Bleipapiers	—	—	0

Für diese eigentümlichen Befunde ist eine einheitliche Erklärung nicht leicht zu geben; vielleicht kommt die folgende der Wahrheit noch am nächsten:

Es handelt sich im vorliegenden Falle um eine Nebenreaktion.

Hauptreaktion: $Na_2S_2O_3 + 2\,HCl = SO_2 + S + 2\,NaCl + 2\,H_2O$

Nebenreaktion: $Na_2S_2O_3 + 2\,HCl + H_2O = H_2S + Na_2SO_4 + 2\,HCl$

---

[1]) Presch, Virchows Archiv 119, 155.

[2]) Salkowski, Zeitschr. f. physiol. Chem. 89, 485 bzw. 490.

[3]) Harn A war etwas frischer als die übrigen Harne.

[4]) Ähnliche Ergebnisse — die gleichen Gesetzmäßigkeiten — habe ich übrigens mit den Harnen des eigentlichen Versuchs, die an den einzelnen Tagen einen verschiedenen Gehalt an Thiosulfat zeigten (siehe später), erhalten.

(Die letztere Umsetzung ist übrigens bei Verwendung des Silber- und Quecksilbersalzes[1]) der unterschwefligen Säure die gewöhnliche.) Für die Annahme einer Nebenreaktion spricht vor allem der Umstand, daß (siehe C und D) die Schnelligkeit der H_2S-Entwicklung — der Mengenunterschied an H_2S läßt sich ja infolge des verschiedenzeitigen Auftretens der Bräunung des Bleipapiers nicht feststellen — dem Gehalt an Thiosulfat parallel verläuft. Bei einer Verdünnung von $^1/_{5000}$ ist die Schwefelwasserstoffentwicklung so schwach, daß es zu einer Bräunung des Bleipapiers nicht kommt. Bei einer $5\,^0/_0$igen Verdünnung verhindert der hohe Gehalt an SO_2 das Auftreten des Schwefelwasserstoffs. Während Harn A (normal) und B ($^1/_{5000}$) nach Erwärmung im Thermostaten jene Spuren von H_2S zeigten, die in normalen Harnen — wie oben erwähnt — beim Erwärmen mit HCl stets auftreten, ist bei $5\,^0/_0$iger Verdünnung der SO_2-Gehalt in dem verschlossenen Kölbchen immer noch so groß, daß auch die nachträgliche Schwefelwasserstoffentwicklung verhindert wird.

Wenden wir uns nun dem Versuche selbst zu. Verfasser, der zur Zeit des Experiments 27 Jahre alt war, nahm nach einer 5tägigen Vorperiode in einer Reihe von 23 Tagen periodenweise langsam ansteigend Dosen von täglich 0,5 bis 12,0 Natriumthiosulfat. Das Salz wurde in Einzeldosen von höchstens 3 g zunächst vormittags, später vormittags und abends, schließlich morgens, vormittags, mittags und abends in möglichst wenig Lösungswasser eingenommen und zwar niemals nüchtern, sondern stets nach Aufnahme größerer oder geringerer Nahrungsmengen. Alle diese Anordnungen wurden absichtlich so gewählt, um Diarrhöen zu vermeiden und dadurch eine möglichst ergiebige Resorption auch der höheren Dosen zu erreichen. Der Erfolg entsprach den Erwartungen, denn wenn auch der Stuhl während der letzten Einnahmeperioden etwas häufiger als gewöhnlich entleert wurde — bis 4 mal täglich —, so war er doch bis auf ein einziges Mal, wo er in flüssiger Form entleert wurde, stets breiiger Konsistenz. Irgendwelche stärkeren Störungen des Wohlbefindens sind nicht aufgetreten. Höchstens wäre zu erwähnen eine gewisse Schlaffheit und Müdigkeit an den Nach-

[1]) C. Neuberg, Beitr. z. chem. Physiol. u. Pathol. 2, 214, 1902.

mittagen der späteren Perioden. Als Ursache dieses Symptoms ist vielleicht die Resorption von Darmschwefelwasserstoffgasen, die sich in den letzten Tagen des Versuchs stark vermehrt gezeigt hatten, anzusprechen. Die Vermehrung der Schwefelwasserstoffgase ist wohl auf Reduktion des Thiosulfats durch Darmbakterien zurückzuführen. Menge und Art der Nahrung wurden während der Versuchsperiode keinen besonderen Bestimmungen unterworfen; nur größere Schwankungen wurden nach Möglichkeit vermieden. Übrigens wurden mir schon durch die äußeren Verhältnisse — der Versuch wurde in der Zeit des Waffenstillstandes angestellt — gewisse Beschränkungen in der Auswahl der Speisen auferlegt.

Der in 24 Stunden entleerte Harn — als tägliche Periode galt die Zeit von 8 Uhr morgens bis zur gleichen Zeit am nächsten Tage — wurde in Flaschen gesammelt. Es wurden täglich festgestellt: Menge, spez. Gewicht sowie Gehalt des Harns an Schwefelsäure; und da Schwankungen im Eiweißstoffwechsel zu erwarten waren, die Menge der ausgeschiedenen Schwefelsäure aber bis zu einem gewissen Grade von diesem abhängig ist, so wurde auch der Harnstickstoff täglich bestimmt. Außerdem wurden noch die Mengen der täglich ausgeschiedenen Ätherschwefelsäuren festgestellt. Denn nachdem Masuda[1]) bei Kaninchen gefunden hatte, daß die Ätherschwefelsäure bei Zufuhr von Schwefelharnstoff auch ohne Einführung von Substanzen aus der aromatischen Reihe anstieg, war mit der Möglichkeit einer Vermehrung der Ätherschwefelsäure auch bei Zuführung anderer schwefelhaltiger Verbindungen zu rechnen. Schließlich wurde der Harn zwecks Konservierung mit wenigen Kubikzentimetern Chloroform geschüttelt und aufbewahrt, um nach Abschluß der Versuchsreihe einer Prüfung auf Thiosulfat unterzogen zu werden.

Die Ergebnisse der einzelnen Bestimmungen sind in folgender Tabelle niedergelegt.

Bekanntlich steht die Schwefelsäureausscheidung im Harn bei etwa gleichbleibender Nahrung — wie sich auch aus den Zahlen der Vorperiode ergibt — in einem gewissen Parallelismus zur Stickstoffausscheidung. Bestimme ich daher aus den Durch-

---

[1]) Masuda, Zeitschr. f. physiol. Chem. 67, 28.

Tabelle II.

Periode Menge des tägl. aufgenommenen Thiosulfats	Tag	Harnmenge ccm	Spez. Gewicht	Gesamt-N g	Gesamtschwefelsäure g	Ätherschwefelsäure (H_2SO_4) g
Vorperiode	21. I.	1152	1025	8,942	1,991	0,136
	22. I.	1118	1025	8,291	1,853	0,151
	23. I.	1095	1028	9,183	2,073	0,166
	24. I.	927	1030	9,687	1,977	0,140
	25. I.	1088	1027	10,972	2,188	0,165
I. 0,5 Thiosulfat	26. I.	1680	1016	8,966	2,381	0,155
	27. I.	494	1034	7,087	2,013	0,137
	28. I.	670	1032	9,194	2,345	0,130
	29. I.	980	1027	9,917	2,436	0,132
II. 1,0 Thiosulfat	30. I.	1614	1018	10,188	3,028	0,163
	31. I.	830	1030	9,147	3,128	0,146
	1. II.	940	1031	9,156	2,965	0,149
	2. II.	2180	1015	9,216	2,952	0,146
III. 1,5 Thiosulfat	3. II.	823	1030	9,041	3,285	0,145
	4. II.	995	1026	9,515	2,984	0,151
	5. II.	1052	1024	7,656	2,712	0,132
IV. 3,0 Thiosulfat	6. II.	996	1031	9,595	3,808	0,143
	7. II.	1114	1026	8,879	3,828	0,179
	8. II.	1488	1024	10,055	4,588	0,225
V. 6,0 Thiosulfat	9. II.	1502	1020	8,483	5,895	0,189
	10. II.	853	1034	9,932	6,375	0,156
	11. II.	1040	1031	9,839	6,058	0,149
VI. 9,0 Thiosulfat	12. II.	1824	1018	9,356	7,189	0,169
	13. II.	1514	1023	8,500	8,579	0,178
	14. II.	990	1027	7,685	7,520	0,166
VII. 12,0 Thiosulfat	15. II.	1031	1032	8,502	9,683	0,165
	16. II.	1724	1018	8,245	8,317	0,160
	17. II.	1019	1028	8,086	9,442	0,137
Nachperiode	18. II.	945	1027	8,056	3,664	0,136
	19. II.	947	1022	7,351	1,776	0,143
	20. II.	1161	1023	9,294	2,335	0,147
	21. II.	[1]—	—	—	—	—
	22. II.	[1]—	—	—	—	—
	23. II.	1850	1018	10,643	2,592	0,155
	24. II.	1428	1020	9,996	2,436	0,156
	25. II.	1445	1018	8,613	2,006	0,134

[1]) Die Versuchsreihe sollte am 20. II. abgeschlossen werden. Als durch die Untersuchung des Harns vom 20. II. das Bestehen einer längeren Nachausscheidung festgestellt wurde, wurde der Harn vom 23. II. an wieder gesammelt.

Tabelle III.

1	2	3	4	5	6	7	8	9
Periode Menge des täglich aufgenommenen Thiosulfats	Tag	Überschuß an Sulfat-S	Summe desselben innerhalb der einzelnen Perioden	Mit dem Salz aufgenommener Schwefel	Summe desselben innerhalb der einzelnen Perioden	Differenz aus 3 und 5	Differenz aus 4. und 6	Ausgeschiedener Sulfat-S des Thiosulfats in % des eingeführten
I. 0,5 Thiosulfat	26. I.	0,150	**0,538**	0,129	0,516	− 0,021	− 0,022	—
	27. I.	0,162		0,129		− 0,033		
	28. I.	0,123		0,129		0,006		
	29. I.	0,103		0,129		0,026		
II. 1,0 Thiosulfat	30. I.	0,277	**1,309**	0,258	1,032	− 0,019	− 0,277	—
	31. I.	0,383		0,258		− 0,125		
	1. II.	0,328		0,258		− 0,070		
	2. II.	0,321		0,258		− 0,063		
III. 1,5 Thiosulfat	3. II.	0,442	**1,103**	0,387	1,161	− 0,055	0,058	**95,00**
	4. II.	0,310		0,387		0,077		
	5. II.	0,351		0,387		0,036		
IV. 3,0 Thiosulfat	6. II.	0,573	**1,999**	0,774	2,322	0,201	0,323	**86,09**
	7. II.	0,630		0,774		0,144		
	8. II.	0,796		0,774		− 0,022		
V. 6,0 Thiosulfat	9. II.	0,740	**3,422**	1,548	4,644	0,808	1,222	**73,69**
	10. II.	1,391		1,548		0,157		
	11. II.	1,291		1,548		0,257		
VI. 9,0 Thiosulfat	12. II.	1,696	**5,828**	2,322	6,966	0,626	1,138	**83,66**
	13. II.	2,211		2,322		0,111		
	14. II.	1,921		2,322		0,401		
VII. 12,0 Thiosulfat	15. II.	2,572	**7,236**	3,096	9,288	0,524	1,952	**77,91**
	16. II.	2,142		3,096		0,954		
	17. II.	2,522		3,096		0,474		
Nachperiode	18. II.	0,635	**1,068**	—	—	—	—	—
	19. II.	0,066						
	20. II	0,113						
	21. II.	—						
	22. II.	—						
	23. II.	0,103						
	24. II.	0,097						
	25. II.	0,054						

schnittswerten der Vorperiode das Verhältnis Stickstoff : Sulfatschwefel, so kann ich dadurch, daß ich in diesen Quotienten die in den späteren Perioden für N gefundenen Werte einsetze, die Mengen des Sulfatschwefels, wie sie sich an den einzelnen Tagen bei normalem Stoffwechsel etwa ergeben hätten,

wenigstens annähernd ermitteln. Führen wir diese Rechnung durch, so erhalten wir

N : Sulfat-S = 1 : 0,214

sowie die in der vorstehenden Tabelle niedergelegten Werte.

Zu dieser Tabelle seien noch einige Erklärungen gestattet. Der „Überschuß an Sulfatschwefel" gibt die vom Thiosulfat herrührende Sulfatschwefelmenge, also den oxydierten Anteil des Thiosulfatschwefels an. Die „Differenz aus 3. und 5. bzw. 4. und 6." entspricht dem nicht oxydierten Anteil desselben. Die in den beiden ersten Perioden auffallende Tatsache, daß die dem eingenommenen Natriumthiosulfat entsprechende Menge Sulfat-S häufig etwas größer ist als die mit dem Natriumthiosulfat aufgenommene Schwefelmenge ist wohl so zu erklären, daß an jenen Tagen das Verhältnis N : Sulfat-S etwas kleiner ist als 1 : 0,214.

In sämtlichen Harnen der Perioden I bis VII sowie den Harnen vom 18. II. und 19. II. wurde mittels des Silberverfahrens Thiosulfat gefunden. Die Harne der 1. und 2. Periode sowie der Harn vom 19. II. zeigten eine nur ganz schwache, wenn auch — vor allem nach Erhitzen mit Salpetersäure — deutlich erkennbare Bräunung, so daß es sich hier wohl nur um Spuren der Substanz handelt. Die Bräunung der verschiedenen Niederschläge war um so intensiver, je mehr Thiosulfat an dem betreffenden Tage aufgenommen worden war.

Mittels des etwas weniger empfindlichen Destillationsverfahrens konnte das Thiosulfat in den Harnen der Perioden II bis VII, sowie im Harn vom 18. II. nachgewiesen werden. Die Stärke des Schwefelbelags sowie der Rosafärbung bei Anstellung der SO_2-Reaktion ging parallel der aufgenommenen Thiosulfatmenge. Beim Destillieren der Harne der II. Periode war nur eine ganz leichte Andeutung eines Schwefelanflugs zu erkennen; die SO_2-Reaktion dagegen war noch recht deutlich.

Durch Zusatz von $HgCl_2$ konnte Thiosulfat nur in den Harnen der Perioden VI und VII mit Sicherheit nachgewiesen werden; bei diesen Harnen entstand ein grauschwarzer Niederschlag. Bei den übrigen Harnen entstand nur eine opake bis milchiggraue Trübung, die eine sichere Entscheidung nach den oben gemachten Ausführungen nicht zuließ.

Aus den Harnen der Perioden VI und VII fiel Schwefel

beim Kochen mit Salzsäure aus. Die gleiche Erscheinung wurde beobachtet, wenn 200 ccm Harn, mit 20 ccm HCl (25%) versetzt, mehrere Tage lang stehen gelassen wurden. Der auf die letztere Art entstandene Niederschlag wurde auf dem Filter gesammelt, mit Wasser und Alkohol ausgewaschen, getrocknet, schließlich in heißem Chloroform gelöst. Bei spontanem Verdunsten des Chloroforms blieb Schwefel in krystallinischer Form zurück. Der mittels Kochen mit Salzsäure ebenso behandelte Niederschlag zeigte nie Schwefelkrystalle. Anscheinend verflüchtigt sich der größte Teil des Schwefels mit dem Wasserdampf.

Die schon aus der Silberreaktion sich ergebende Tatsache, daß in den beiden ersten Perioden nur Spuren von Thiosulfat wieder ausgeschieden werden, geht auch aus Tabelle III hervor, denn erst von der III. Periode an zeigt sich hier eine durch Wägung zum Ausdruck gebrachte Differenz zwischen dem eingenommenen und dem oxydierten Thiosulfatschwefel. Aus Tabelle III ergibt sich weiter, daß mit der Höhe der aufgenommenen Thiosulfatdosis der oxydierte Anteil der Substanz absolut ansteigt (siehe Spalte 4), relativ jedoch abnimmt (siehe Spalte 9). Diese Feststellung entspricht der von E. Tauber bei Zuführung von Phenol gefundenen Gesetzmäßigkeit. Eine Abweichung von der angeführten Regel zeigt nur Periode V. Diese Abweichung ist entweder darauf zurückzuführen, daß für Periode V der Quotient N : Sulfat-S den Durchschnittswert übersteigt, oder aber sie hängt mit der Nichtberücksichtigung der Nachausscheidung zusammen. Denn ebenso wie sich in der Nachperiode noch eine nicht unbeträchtliche Nachausscheidung fand, wird wohl auch in jeder einzelnen Periode ein Teil der dort erhaltenen Sulfatschwefelmenge als eigentlich noch den vorhergehenden Perioden zugehörig anzusehen sein. Diesen Teil müßten wir eliminieren, wollten wir eine genauere Vergleichung der in den einzelnen Perioden erhaltenen Werte vornehmen. Nun ist wohl mit größter Wahrscheinlichkeit anzunehmen, daß die absolute Größe der Nachausscheidung mit der Höhe der Aufnahmedosis steigt. Wir müßten also, um die Nachausscheidungsmengen auszuschalten, von den Werten der Spalte 4 — in Tabelle III — um so mehr abziehen, je näher dem Ende der Versuchsreihe die betreffende Periode

steht. Dadurch würden sich aber die Differenzen zwischen den einzelnen Zahlen der Spalte 4 und damit auch der Spalte 9 vergrößern; vielleicht würde sich dann der in Spalte 9 für die V. Periode gefundene Wert der aus den übrigen Werten hervorgehenden Gesetzmäßigkeit einfügen.

Wenden wir uns nun noch der Frage zu, ob die Aufnahme von Thiosulfat eine Erhöhung der Ausscheidung von Ätherschwefelsäuren im Harn verursachen kann, so müssen wir auf Grund der in Tabelle II für die Ätherschwefelsäuren erhaltenen Werte diese Frage bejahen. Wenn auch die Perioden IV bis VII im einzelnen zum Teil ebenso geringe Zahlen für die Ätherschwefelsäure aufweisen, wie die Vor- und die Nachperiode und die Perioden I bis III, so zeigt zweifelsohne der Durchschnitt der erstgenannten Perioden höhere Werte als der der übrigen Zeit. Die Durchschnittsmenge der Ätherschwefelsäure vom 6. II. bis 17. II. beträgt 0,168; die der Ätherschwefelsäure aller übrigen Perioden 0,146. Nach Aufnahme von 3 bis 12 g Natriumthiosulfat hat sich somit die Ätherschwefelsäure im Harn im Durchschnitt um etwa 15 % erhöht.

Die Ursache für diese Tatsache kann darin liegen, daß durch Einwirkung des Thiosulfats oder von Spaltprodukten desselben die Entwicklung derjenigen Bakterien im Darm begünstigt wird, die schon unter normalen Verhältnissen aromatische Kohlenwasserstoffe wie Phenol, Kresol, Indol usw. aus entsprechenden Aminosäuren der Nahrung bilden. Viel wahrscheinlicher ist jedoch die Annahme, daß die Menge der im Darm entstehenden Kohlenwasserstoffe selbst durch die Anwesenheit von Thiosulfat nicht beeinflußt wird, daß vielmehr vom Thiosulfat Verbindungen abgespalten werden, die infolge einer besonders großen Affinität zu den sog. Fäulnisprodukten einen Teil derselben rasch an sich zu binden vermögen und ihn dadurch der Oxydation[1]) entziehen.

Bemerkenswert sind in diesem Zusammenhange Versuche, die Siegfried Tauber[2]) an Kaninchen angestellt hat. Tauber fand, daß nach subcutaner Einspritzung einer unter gewöhn-

---

[1]) E. Tauber, Zeitschr. f. physiol. Chem. 2, 366.

[2]) Siegfried Tauber, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **36**, 197.

lichen Umständen unbedingt letal wirkenden Dosis Phenol die tödliche Wirkung ausblieb, wenn gleich darauf Natriumsulfit oder Natriumaldehydsulfit intravenös eingeflößt wurde. Intravenöse Zufuhr von Natriumsulfat und anderen schwefelsauren Verbindungen — darunter auch Thiosulfat — blieb dagegen erfolglos. Tauber hält es auf Grund dieser Befunde für wahrscheinlich, daß im Organismus zunächst eine Paarung von im Darm gebildeten aromatischen Kohlenwasserstoffen und schwefliger Säure vor sich geht, und daß sich daran erst eine Oxydation zu Ätherschwefelsäure anschließt. Bei der leichten Abspaltbarkeit der schwefligen Säure vom Thiosulfat wäre an einen Zusammenhang zwischen den Ergebnissen Taubers und der von mir gefundenen Vermehrung der Ätherschwefelsäuren bei Aufnahme von Thiosulfat wohl zu denken. Daß Tauber bei intravenöser Zufuhr von Thiosulfat keinen Einfluß auf die Wirkung des Phenols gefunden hat, spricht keineswegs dagegen; denn während nach parenteraler Einverleibung von Thiosulfat eine Abspaltung von in Betracht kommenden Mengen schwefliger Säure kaum in Frage kommt, ist eine solche in den gärungssauren unteren Darmabschnitten sehr wohl möglich.

Die Ergebnisse des vorliegenden Versuchs haben übrigens noch ein rein ärztlich-praktisches Interesse. Schon vor etwa 20 Jahren hat Lang[1]) eine recht günstige Einwirkung des Thiosulfats auf mit Blausäure vergiftete Kaninchen im Sinne einer Entgiftung feststellen können; vor kurzem wurden die Ergebnisse seiner Arbeit von E. Teichmann und W. Nagel[2]) durch Versuche an Mäusen bestätigt. Besonders günstige Resultate erzielten die beiden letzteren Verfasser bei prophylaktischer Anwendung des Thiosulfats. Dies veranlaßte sie, auf die Möglichkeit einer durch prophylaktische Thiosulfatdosen zu erreichenden Verringerung der Gefahren hinzuweisen, denen Angestellte bei einer mit Blausäureentwicklung einhergehenden Tätigkeit ausgesetzt sind. Daß eine derartige Immunisierung durch dauernde Aufnahme von Thiosulfat per os — und um eine solche kann es sich wohl nur handeln — im Prinzip möglich ist, wird durch die Ergebnisse der vorliegenden Arbeit be-

---

[1]) Lang, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **36**, 75.

[2]) E. Teichmann und W. Nagel, diese Zeitschr. **93**, 312.

wiesen. Dieselben zeigen nämlich einmal, daß bei langsamer Gewöhnung 12,0 des Salzes noch ohne merkliche Beschwerden ertragen werden, sodann daß von dieser Dosis ein nicht unbeträchtlicher Teil nicht zerstört wird, somit für die Entgiftung zur Verfügung steht, und schließlich, daß die Ausscheidung verhältnismäßig recht langsam vor sich geht; denn da im Tagesharn vom 19. II. noch Spuren des Salzes nachweisbar waren, so kreisten etwa 36 Stunden nach der am 17. II. abends 8 Uhr erfolgten Aufnahme der letzten Teildosis von 3 g noch sicher — wenn auch nur geringe — Mengen Thiosulfat im Blute.

Zum Schluß möchte ich noch auf die lange, 34tägige Reihe von Werten für die Stickstoffausscheidung im Harn hinweisen. Das Minimum beträgt 7,087, das Maximum 10,972, das Mittel 9,037. Berücksichtigt werden muß dabei, daß ich während jener Zeit neben der durch die Laboratoriumsarbeit bedingten keinerlei weitere körperliche Tätigkeit ausgeübt habe. Bestimmungen des Körpergewichts wurden nicht vorgenommen; doch dürfte sich das letztere — nach dem Habitus zu urteilen — kaum geändert haben.

Zusammenfassung.

1. Thiosulfat wird innerlich bis zu 12 g täglich ohne Schaden ertragen.

2. Die Oxydation des Thiosulfats im Organismus geschieht in derselben Gesetzmäßigkeit, wie sie Tauber für das Phenol festgestellt hat: mit wachsender Quantität des Thiosulfats steigt fortdauernd die absolute Menge des oxydierten Anteils, die relative sinkt dagegen, so daß sich der Prozentgehalt des oxydierten Anteils mit Zunahme der eingeführten Substanz fortdauernd vermindert.

3. Die Quantität der Ätherschwefelsäure steigt unter dem Einfluß eingeführten Thiosulfats — wenn auch nicht erheblich — ebenso wie dies Masuda für den Schwefelharnstoff nachgewiesen hat.

Ich nehme hier Veranlassung, Herrn Geheimrat E. Salkowski für die Förderung der Arbeit verbindlichst zu danken.

Über die Bildung des Inosits und des Hexylenaldehyds am Licht.

Von

P. R. Kögel.

(Eingegangen am 28. Mai 1919.)

In einer früheren Abhandlung[1]) wurde die Kohlensäureassimilation nach folgendem Schema begründet:

$$\begin{matrix} O=C=O \\ \vdots\vdots \\ O=C=O \end{matrix} + 2H_2O \rightarrow \begin{matrix} HO-C-OH \\ \| \\ HO-C-OH \end{matrix} \rightarrow \begin{matrix} H \\ O-C-OH \\ \diagdown \mid \diagdown \\ OH-C-O \\ H \end{matrix} \rightarrow$$

2 Kohlensäure — Tetraoxydäthylen — Diketoäthyldioxyd

$$\begin{matrix} HCHO \\ HCHO \end{matrix} + 2O_2.$$

2 Formaldehyd

Die Spaltung des Diketoäthyldioxyds liefert nicht nur Formaldehyd, sondern auch die charakteristische Außengruppe (a) der Glucose, ferner durch einfache Trennung des Moleküls Ameisensäure.

$$\begin{matrix} H \\ (a)\ OH \cdot C \cdot O - \\ OH \cdot C \cdot H \\ OH \cdot C \cdot H \\ H \cdot C - \\ H \cdot C \cdot OH \\ CH_2OH \end{matrix} \qquad \begin{matrix} H \\ OH-C-O \\ \mid \quad \mid \\ \hline \mid \quad \mid \\ OH-C-O \end{matrix} = \begin{matrix} HCOOH \\ HCOOH \end{matrix}$$

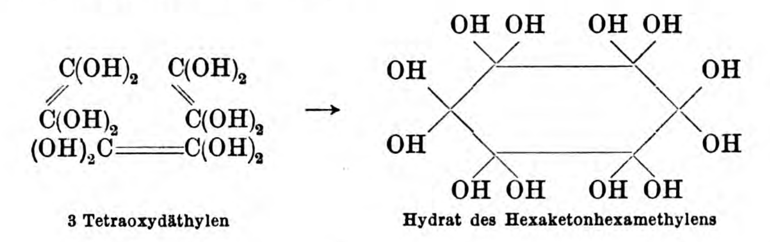
Glucose — Diketoäthyldioxyd (Peroxyd) — Ameisensäure

---

[1]) Diese Zeitschr. 95, 313, 1919.

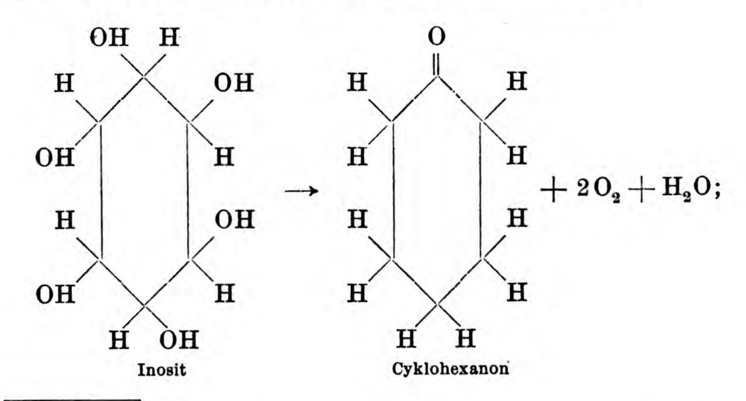
Im folgenden soll nun dargelegt werden, in welcher Weise die Photosynthese zweier Substanzen, nämlich des Inosit und des Hexylenaldehyds, deren Anwesenheit in der Pflanze allgemein als sicher angenommen wird, in Anschluß an den obengenannten Vorgang der Kohlensäureassimilation gedacht und begründet werden kann.

„Die weite Verbreitung des Inosit im Pflanzenreich muß als erwiesen gelten[1]". Drei Moleküle des Tetraoxydäthylens bilden ein Polymeres, das Hydrat des Hexaketonhexamethylens. Die Entstehung einer solchen Verbindung kann durch die Tatsache begründet werden, daß einfache Kohlenstoffverbindungen mit der Doppelbindung — CH = CH — allgemein durch das Licht polymerisiert werden.



3 Tetraoxydäthylen → Hydrat des Hexaketonhexamethylens

Aus dem Hydrat des Hexaketonhexamethylens, das sich hochoxydierten Verbindungen gegenüber als Reduktionsmittel verhält, entsteht Inosit[2]). Durch Wasserausscheidung



Inosit → Cyklohexanon

[1]) Die Hypothesen über die chemischen Vorgänge der Kohlensäureassimilation von H. Schroeder, 1917, S. 31.

[2]) Schröder, o. c. S. 31.

O

H H

H H

$$H_2O + 2 \quad = CH_2 : CH \cdot (CH_2)_3 \cdot CHO + C_6H_{12}O_2$$

Hexylenaldehyd Capronsäure

H H

H H

H H

würde nach Crato[1]) ein dreiwertiges Phenol (etwa Phloroglucin) gebildet werden. Damit wäre der Übergang aus der Reihe der aliphatischen in die der aromatischen Verbindungen erreicht.

Der Hexylenaldehyd wurde in größeren Mengen in Pflanzen gefunden[2]) und als solcher von Curtius und Franzen[3]) erkannt. Für ein Zwischenglied in der Kohlenhydratbildung bei der Kohlensäureassimilation wird er auch von Curtius und Franzen[4]) nicht gehalten, sondern eher für ein Endprodukt.

Die Bildung des Hexylenaldehyds kann von Inosit über Cyklohexanon abgeleitet werden.

Aus dem Inosit wird unter Ausscheidung von Sauerstoff und Wasser Cyklohexanon. Dieses wird durch Licht, wie durch Ciamician und Silber[5]) schon seit längerer Zeit bekannt wurde, in den isomeren Hexylenaldehyd und Capronsäure gespaltet.

Es ist klar, daß der physiologische Versuch den Sachverhalt in der Pflanze bestätigen muß.

---

[1]) Schröder, o. c. S. 31.

[2]) u. [3]) S. 96.

[4]) S. 103.

[5]) Ber. d. Deutsch. chem, Ges. **41**, 1071, 1908.

Die Saponine von Chenopodium Quinoa (Reismelde), Euphorbia (Tithymatus helioscopius) helioscopia, Euphorbia Peplus, Mercurialis perennis.

Von

M. Gonnermann.

(Aus dem Institut für Pharmakologie, Rostock.)

(Eingegangen am 29. Mai 1919.)

Von den vielen Untersuchungen auf pflanzliche Saponine, die Kobert mit meiner Mitwirkung ausführte, hat derselbe zweifellos eine Zusammenstellung der Resultate aufgestellt, die sich nach seinem Tode leider nicht vorfand. Die nachfolgenden vier Pflanzen habe ich selbständig untersucht und sind die Protokolle darüber in der Hinterlassenschaft Koberts aufgefunden worden. Es fand sich nun aber auch ein Verzeichnis über eine größere Anzahl kleiner Mitteilungen über Institutsuntersuchungen, die in verschiedenen Zeitschriften veröffentlicht sind, aber Sonderabzüge sind nicht auffindbar. Unter diesen befinden sich auch zwei, die über die Reismelde[1]) veröffentlicht sind, die jedoch über die Blutprobe der Saponine des Krautes und der Samen nichts enthalten, sondern nur über den praktischen Wert als Nahrungsmittel berichten, so daß es mir möglich wurde, die Resultate meiner Versuche zu veröffentlichen. Am meisten dürften diejenigen interessieren, die die Reismelde betreffen, deren Samen eine Zeit lang eine Rolle als Nahrungsmittel spielten, dann aber ihrer Bitterkeit wegen wenig Anklang gefunden haben. Es ist dem Institut gelungen, einen größeren Posten der Samen zu erlangen, aus denen dann das frische Kraut gezogen wurde.

---

[1]) Chem. Zeitg. **1917**, Nr. 8 und 9, S. 61 und **1918**, Nr. 61, S. 245.

Schüler und Doktoranden bearbeiteten unter Koberts Leitung eine Anzahl Drogen auf Saponine. Die ausführlichen Untersuchungen über Pockenwurzel, Hauhechel, Bruchkraut, Wollblumen, Futterrübe hat Kobert unter dem Titel „Neue Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen“ im Verlag von Ferd. Enke, Stuttgart, erscheinen lassen (1916). Ferner veröffentlichte er „Über einheimische Saponinpflanzen in den Mecklenb. landwirtschaftl. Mitteilungen 1914 und „Über einheimische Saponinpflanzen als Heil- und Gewürzpflanzen“ in der Monatsschrift für Praxis und Wissenschaft 1917/18.

A. Reismelde, Chenopodium Quinoa.

1. Frisches Kraut.

500 g Kraut mit Wurzeln wurden zerkleinert und mit 2500 ccm alkalischem Wasser ausgekocht; die abgepreßte Flüssigkeit nach dem Klären durch Absetzen während 24 Stunden mit verdünnter Salzsäure bis zur deutlichen sauren Reaktion versetzt. Der entstandene Niederschlag — wohl saures Saponin, d. h. Quinoasäure enthaltend, wurde auf dem Filter vollständig ausgewaschen, das hierbei erhaltene erste Filtrat, d. h. ohne Waschwässer — vielleicht ein neutrales Saponin enthaltend, für sich weiter untersucht. Der auf dem Filter erhaltene Niederschlag wurde abgepreßt, so daß er noch eine gewisse Feuchtigkeit besaß, sich leicht zerbröckeln ließ, wurde mit Methylalkohol fein und gleichmäßig verrieben und durch dreimaliges Auskochen ein vorhandenes saures Saponin (Quinoasäure) gereinigt zu erhalten versucht. Die Methyllösung wurde filtriert, in gewogener Schale zur Trockne verdampft und hierbei 0,107 Quinoasäure erhalten.

Diese 107 mg wurden zu 53,5 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst, so daß

1 ccm = 20 mg Quinoasäure enthielt.

Nun wurden die Blutversuche eingeleitet, und zwar, daß 7 gleichweite Reagensgläser mit absteigenden Mengen der Quinoasäurelösung beschickt und mit physiologischer Kochsalzlösung bis zu 5 ccm aufgefüllt wurden; das I. Reagensglas enthält stets als Kontrolle nur Kochsalz, alle Gläschen aber entweder zwei Tropfen Blut oder einen Tropfen gewaschene Hammelblutkörperchen.

I	5 ccm Kochsalz (NaCl)		+ 1 Trpf. Hammelblutkörperchen	als Kontrolle
II	5 „ „	5 ccm Saponin	+ 1 Trpf. „	= 100 mg
III	1 „ NaCl „	+ 4 „ „	+ 1 „ „	= 80 „
IV	2 „ „ „	+ 3 „ „	+ 1 „ „	= 60 „
V	3 „ „ „	+ 2 „ „	+ 1 „ „	= 40 „
VI	4 „ „ „	+ 1 „ „	+ 1 „ „	= 20 „
VII	9 „ „ „	+ 1 „ „	+ 1 „ „	= 20 „

Diese Gemische blieben bis zur eintretenden Reaktion — Hämolyse — stehen und ergaben in

I als Kontrolle nichts
II es trat sofortige totale Hämolyse ein
III „ „ nach 2 Minuten „ „
IV „ „ „ 7 „ „ „
V „ „ „ 33 „ „ „
VI „ „ „ 2 Stunden und 15 Minuten
VII „ „ keine Hämolyse ein

Ergebnis: Das saure Saponin, d. h. die Quinoasäure, bewirkte nach 2 Stunden und 15 Minuten eine totale Hämolyse — es waren die Blutkörperchen zu einer klaren roten Flüssigkeit gelöst in dem Gemisch, das 20 mg Quinoasäure zu 5 ccm gelöst enthält, d. h. es entstand ein Verhältnis 107 mg: 10000 mg Kraut = 1:93 = 20 mg Quinoasäure = 1,800 Kraut und 20 mg: 5000 = 1:250 für Quinoasäure, und diese Zahlen bezeichnen die Wirkungswerte.

Nun wurde auch noch auf Glucuronsäure geprüft. Es sind mehrere Methoden angewendet worden; ich arbeitete nach folgender bewährter, zweifelloser: zunächst wird die Versuchsflüssigkeit, z. B. Harn, in diesem Falle das vom neutralen Saponin erhaltene Filtrat, mit starker Salzsäure eine Minute gekocht, dann das Reagenz: ein Körnchen Naphtholresorcin in Alkohol zu $20\,^0/_0$ Gehalt gelöst — zugefügt; dieses Gemisch wird nun 15 Minuten in ein siedendes Wasserbad gestellt, wobei sich ein dunkler, zuweilen stockiger Niederschlag bildet. Man filtriert durch ein Asbestfilter, wäscht mit destilliertem heißem Wasser die Säure etwas aus, saugt die Flüssigkeit möglichst ab und gießt nun auf denselben wasserfreien Äther; bei Gegenwart von Glucuronsäure filtriert zwar eine dunkelblaue ätherische Lösung, die zwar Glucuronsäure enthalten kann, aber zunächst nicht beweisend ist, denn es hat sich herausgestellt, daß auch Saccharide und Pentosen eine Farbenreaktion geben, und daher hat Neuberg[1]) an Stelle des Äthers beim Ausziehen des Niederschlages Benzol angewandt, wobei in dasselbe nur die bläuende Substanz der Glucuronsäure übergeht. Allein beim Durchschütteln mit dem Benzol emulgierte sich das Gemisch, so daß ich wieder mit Äther auszog, diese ätherische Lösung verdampfte und — nicht, wie anderseits den Rückstand in Chloroform löste, sondern mit Benzol verrieb, wobei nur allein die unzweideutige blaue Färbung für Glucuronsäure erhalten wird. Der ungelöst bleibende Rückstand gibt mit Äther eine kirschrote Lösung, die ein stärkeres Spektrum gibt als der blaue Teil des Reaktionsgemisches

[1]) C. Neuberg, Der Harn, S. 434 und C. Neuberg und S. Saneyoshi, diese Zeitschr. **36**, 56, 1911.

im Benzol. Chloroform löst einen Zwischenfarbstoff, der im Spektrum keine Streifung zeigt.

Ergebnis: Das Kraut der Reismelde enthält Glucuronsäure.

Die vom sauren Saponin abfiltrierte Flüssigkeit wurde direkt mit Säure zerkocht; hierbei entstand eine geringe Menge Niederschlag von neutralem Sapogenin. Da die Saponine Glucoside sind, die neben dem Sapogenin auch noch einen Zucker — Saccharide oder Pentosen — abspalten, werden diese im Filtrat sich durch ihre Reagenzien — Fehling, Luft und Bial — sich nachweisen lassen: Das Sapogenin wurde auf gewogenem Filter gesammelt und zu 62 mg erhalten, welche zu 62 ccm in physiologischer Kochsalzlösung gelöst wurden, so daß

1 ccm 10 mg Sapogenin = 8,07 Kraut entsprach.

I 5 ccm NaCl + 1 Trpf. Hammelblutkörperchen als Kontrolle
II — „ „ — 5 ccm Lösung = 50 mg Sapogenin
III 1 „ „ + 4 „ „ = 40 „ „
IV 2 „ „ + 3 „ „ = 30 „ „
V 3 „ „ + 2 „ „ = 20 „ „
VI 4 „ „ + 1 „ „ = 10 „ „
VII 9 „ „ + 1 „ „ = 10 „ „

Das Resultat war:

I natürlich ohne Wirkung
II nach 5 Minuten totale Hämolyse
III „ 5 „ „ „
IV „ 1/2 Stunde „ „
V „ 16 Stunden „ „
VI ohne Wirkung
VII „ „

Ergebnis: Das neutrale Sapogenin bewirkte auf Hammelblutkörperchen bei 30 mg zu 5 ccm totale Hämolyse, d. h. 1 : 157 Wirkungswert für Sapogenin, 1 : 24 für Kraut.

Da nun erfahrungsgemäß ein Teil Sapogenin zwei Teilen Saponin entspricht, so würde sich gegebenenfalls der Wirkungswert für das neutrale Saponin wie 1 : 334 ergeben.

2. Samen.

Eine größere Menge Samen wurde in der chemischen Fabrik Güstrow von Dr. Heilmann verarbeitet, worüber eine genaue Angabe über die Blutversuche eines dargestellten Gemisches beider Saponine gegeben ist. Die Untersuchungen der Samen im Institut wurden zu verschiedenen Zeiten ausgeführt: im Februar 1914 und im Juli und August 1918.

25 g fein gemahlener Samen wurden ihres reichen Amylumgehaltes wegen mit der zehnfachen Menge alkalischen destillierten Wassers ausgekocht, der Auszug direkt mit Salzsäure und dem mehrfachen Volumen

96 %igen Alkohols versetzt. Das Filtrat, die beiden Saponine enthaltend wurde neutralisiert und eingedampft, der Rückstand mit 96 %igem Alkohol ausgekocht, das Filtrat eingedampft, der Rückstand mit alkalischem Wasser aufgenommen, das Filtrat mit wenig überschüssiger Salzsäure versetzt, um das saure Saponin — die Quinoasäure auszufällen; diese wird auf dem Filter ausgewaschen und zu 25 ccm in physiologischer Kochsalzlösung unter Zugabe von $^1/_{10}$ Sodalösung gelöst, so daß

1 ccm = 1 g Samen entsprach.

Die Wirkung auf menschliches Placentarblut war so energisch, daß eine doppelte Verdünnung der Saponinlösung durch Kochsalzlösung notwendig wurde; die neue Lösung enthielt dann

1 ccm = 10 mg Samen.

I	5 ccm	NaCl + 2 Trpf. Menschenblut			
II	— „	— 5 ccm	Lösung	= 50 mg	Samen für saures Saponin
III	1 „	+ 4 „	„	= 40 „	„ „ „ „
IV	2 „	+ 3 „	„	= 30 „	„ „ „ „
V	3 „	+ 2 „	„	= 20 „	„ „ „ „
VI	4 „	+ 1 „	„	= 10 „	„ „ „ „
VII	9 „	+ 1 „	„	= 10 „	„ „ „ „

Die Wirkung war

II momentane Hämolyse
III nach 2 Minuten Hämolyse
IV „ 4 „ „
V „ 3 Stunden „
VI u. VII ohne Wirkung

Ergebnis: Die Wirkung des sauren Saponins: der Samen auf Menschenblut liegt bei 20 mg Samen auf 5 ccm Kochsalz, d. h. bei 1:250 bezogen, bei 2 % aber bei 1:1250.

Bei der Wiederholung im Juli 1918 wurde das saure Saponin ausgefällt und in physiologischer Kochsalzlösung gelöst; hierbei ergab sich das ganz merkwürdige Resultat, daß die großen Dosen viel schwerer und langsamer wirkten als die kleinen; auch wurden mehrere Blutarten verwendet.

I	5 ccm	NaCl + 1 Trpf. Hammelblutkörperchen				
II	— „	„ — 5 ccm	Saponin	= 30 mg	nach 18 Stunden unvollkommen	
III	1 „	„ + 4 „	„	= 20 „		
IV	2 „	„ + 3 „	„	= 10 „	nach 70 Minuten totale Hämolyse	
V	3 „	„ + 2 „	„	= 8 „		
VI	4 „	„ + 1 „	„	= 6 „	nach 45 Minuten	
VII	9 „	„ + 1 „	„	= 5 „	binnen 1 Minute totale Lösung	

Ferner trat das umgekehrte Verhältnis ein:

I	5 ccm enthalten	4 mg Saponin,	nach 50 Minuten	
II	5 „ „	3 „	„ 18 Stunden	
III	5 „ „	2 „	„ 24 „	
IV	5 „ „	1 „	„	ohne Wirkung
V	5 „ „	0,5 „	„	ohne Wirkung

Ergebnis: Gerade noch völlige Hämolyse bewirkte die Konzentration 3 : 5000 = 1 : 1600; bei

1 : 1000	erfolgte Hämolyse nach	1 Minute
6 : 1000	„ „ „	45 Minuten
8—10 : 1000	„ „ „	70 „
20—30 : 1000	„ „ „	18 Stunden

Die Versuche mit Menschenblut ergaben: bei 50 mg, 30 mg, 25 mg und 20 mg erfolgt erst nach 18 Stunden totale Hämolyse; bei 10 mg nach 7 Minuten, bei 8 mg nach 2 Minuten, bei 3 mg sofortige Hämolyse. Nun tritt plötzlich wieder, wie bei geringeren Dosen, eine Steigerung der Zeit ein: bei 2 mg nach 1 Stunde, bei 1 mg nach 18 Stunden nicht vollkommen. Diese ganz auffällige Wirkung wurde von Kobert nachgeprüft und als völlig richtig befunden; am besten wirken also 5 mg : 5 ccm die Grenze ist bei 2 mg, so daß der Wirkungswert 1 : 2500 ist.

Kaninchenblut bewirkte bei

5 mg in 5 ccm nach 5 Minuten, bei
4 „ „ 5 „ „ 2 Stunden, bei
4,5 „ „ 5 „ keine Hämolyse,

so daß der Wirkungswert bei 1 : 1000 liegt.

Auch die Versuche mit Hammelblutkörperchen hat Kobert nachgeprüft und gleichfalls gefunden, daß der Wirkungswert bei 6 : 1000 = 1 : 166,7 als richtig angesehen werden muß.

Die hämolytische Wirkung auf Menschenblut war immer sehr energisch, so daß 50 mg Samen schnelle Hämolyse bewirkten und eine Verdünnung nötig wurde, wobei durch 20 mg Samen zu 5 ccm — aus dem sauren Saponin berechnet — totale Hämolyse bewirkten, der Wirkungswert daher mit 1 : 250 zu bezeichnen war.

Neutrales Saponin.

Wie ich bereits ausgeführt habe, wurde die vom sauren Saponin abfiltrierte Flüssigkeit, die das neutrale Saponin enthalten könnte, gleich mit Salzsäure zerkocht, um das entsprechende neutrale Sapogenin zu erhalten. In dieser Flüssigkeit war zweifellos die Glucuronsäure nachgewiesen.

Das Filtrat wurde nach dem Neutralisieren eingedampft, der Rückstand, ehe er ganz trocken war, mit Methylalkohol verrieben, ausgekocht

und das erkaltete Filtrat mit viel Äther vermischt, hierdurch das neutrale Saponin abgeschieden und in 25 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst, so daß

1 ccm = 1 g Samen entsprach.

Bei den Versuchen im Februar mit Menschenblut und Hammelblutkörperchen hatte sich ergeben, daß das neutrale Saponin unwirksam war, und so wurde für diese Versuche im Juli die Saponinlösung gleich wie Salzsäure zerkocht und das neutrale Sapogenin gleichfalls zu 25 ccm gelöst; es entsprach dann ebenfalls

1 ccm = 1 g Samen.

Bei der Prüfung mit Menschenblut bewirkten 5 ccm der Lösung nach 8 Stunden totale Hämolyse, während 1 ccm ohne Wirkung war.

Ergebnis: Wenngleich das neutrale Saponin ohne Wirkung auf Menschenblut und Hammelblutkörperchen war, so wirkten 4 ccm = 4 g Samen als Sapogenin total hämolytisch, so daß der Wirkungswert 4 : 5000 = 1 : 1250 zu bezeichnen ist, wie der Versuch beweist, mit Hammelblutkörperchen wieder bei absteigender Menge schneller;

I	5	ccm	NaCl + 1 Tropfen Hammelblutkörperchen			
II	5	„	Lösung enthalten	40	mg,	keine Hämolyse nach 24 Stunden
III	5	„	„ „	20	„	partielle Hämolyse nach 24 Stunden
IV	5	„	„ „	10	„	totale Hämolyse nach 10 Stunden
V	5	„	„ „	7,5	„	
VI	5	„	„ „	5,6	„	
VII	5	„	„ „	4	„	nach 8 Stunden total

Nun wurde doch nochmals ein neuer Kontrollversuch mit frischen Hammelblutkörperchen angestellt und zwar:

I	5	ccm	NaCl + 1 Tropfen Hammelblutkörperchen als Kontrolle			
II	5	„	Lösung enthalten	20	mg	über Nacht totale Hämolyse
III	5	„	„ „	10	„	
IV	5	„	„ „	4	„	nach 1 Stunde
V	5	„	„ „	2	„	„ 1 Minute
VI	5	„	„ „	1	„	„ 4 Minuten total

Verdünnung.

II	5	ccm	Lösung enthalten	0,8	mg	nach 10 Minuten
III	5	„	„ „	0,6	„	„ 20 „
IV	5	„	„ „	0,4	„	über Nacht totale Hämolyse; es wirken also große Dosen ebenfalls langsamer
V	5	„	„ „	0,3	„	
VI	5	„	„ „	0,2	„	
VII	5	„	„ „	0,1	„	

Ergebnis: Bei 0,1 mg Samen entsprechend ist der Wirkungswert bei 1 : 50000; der geringe Erfolg der ersten Ver-

suche kam von den etwas älteren, weniger wirksamen Hammelblutkörperchen. Auch auf Menschenblut wirkte das neutrale Sapogenin stark hämolytisch und zwar bei 1 mg, 0,8 mg, 0,6 mg, 0,5 mg, 0,4 mg, 0,3 mg, 0,2 mg; in 5 ccm erfolgte binnen 40 Minuten, bei 0,1 zu 5 ccm ebenfalls über Nacht totale Hämolyse, so daß auch für Menschenblut der Wirkungswert bei 1 : 50000 gilt.

3. Saponingemisch aus Samen der chemischen Fabrik Güstrow.

Aus den in Nordschleswig geernteten Samen der Reismelde, die durch Dr. Isleib an die chemische Fabrik Güstrow-Dr. Heilmann überwiesen worden waren, wurden dort rund 10 % Rohsaponin durch Auskochen mit Methylalkohol und Fällen mit Äther erhalten. Das ausgekochte Samenpulver schmeckte jedoch immer noch bitter, es mußte daher nochmals eine zweite Auskochung vorgenommen werden. Das gefällte Saponingemisch wurde in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und zunächst die Stärke der Wirkung geprüft. Für Hammelblutkörperchen ergab sich noch bei 1 : 5000 völlige Hämolyse nach einigen Stunden; bei 2 : 5000 bereits nach einer halben Stunde. Für Menschenblut ergab 1 : 2500 über Nacht totale Hämolyse.

Nun wurde das Gemisch durch Salzsäure gefällt und die Menge des sauren Saponins = Quinoasäure — durch Wiegen bestimmt. Aus 250 mg Gemisch wurden 40 mg Quinoasäure = 16 % abgeschieden; die Menge des neutralen Saponins ergibt sich dann zu 210 mg = 84 %. Diese lieferten beim Zerkochen 41 mg neutrales Sapogenin = 19,5 %.

Das neutrale Saponin wirkte in Mengen von 8,4 mg, 4,2 mg, 1,7 mg in 5 ccm noch rasch hämolytisch auf Hammelblutkörperchen, bei 1,5 mg über Nacht, so daß als Grenzwert 1,5 : 5000 mg = 0,5 : 1667 = 1 : 3333 angesehen werden muß.

Das saure Saponin des Gemisches wirkte nach dem Ausfällen und Lösen des Filterinhaltes noch bei 1,6 mg : 5000, also fast ebenso stark als das neutrale Saponin, d. h. 1 : 3125.

Beim Zerkochen ergab das Gemisch reichlich echte Glucuronsäure mit der Benzolprobe, das neutrale Saponin für sich jedoch nicht, indem der mit Naphtholresorcin sich bildende Farbstoff zwar in Äther, aber nicht in Benzol löslich war.

Da das volle Gemisch nur noch 1 : 5000 völlig hämolytisch wirkte, so ergibt sich daraus, daß in demselben das neutrale Saponin weitaus den Hauptanteil ausmachen muß, wie denn auch die Analyse des Gemisches 84 % desselben ergab. Nun ergibt die chemische Bestimmung diesesmal in 2,5 Gemisch 0,518 g saures Saponin = 25,9 %, oder rund 26 %, so waren in 1 mg also 0,74 mg, in 1,5 mg, die die Grenze bildeten, 1,11 mg; dann reicht die Stärke der Wirkung des neutralen Saponins bis 1,11 : 5000, berechnet auf Hammelblutkörperchen.

Beim Vergleich zwischen Gemisch und neutralem Saponin mit Menschenblut ergibt sich:

I	5 ccm als Kontrolle mit NaCl,								
II	5	„	enthalten	40	mg	Gemisch	= 29,6	mg	neutrales Saponin
III	5	„	„	20	„	„	= 14,8	„	„ „
IV	5	„	„	74	„	„	= 7,4	„	„ „
V	5	„	„	3,7	„	„	= 3,7	„	„ „
VI	5	„	„	2,2	„	„	= 2,2	„	„ „
VII	5	„	„	1,5	„	„	= 1,5	„	„ „

Die Wirkung war bei

II	sofortige Hämolyse			
III	nach	3 Minuten	totale	Hämolyse
IV	„	10 „	„	„
V	„	1 Stunde	„	„
VI	„	5 Stunden	„	„
VII	„	18 „	„	„

Ergebnis: Als Grenze für Menschenblut gilt für das neutrale Saponin 1,5 : 5000, 0,5 : 1600 = 1 : 3333, wie denn diese Zahl bereits oben angegeben ist.

Reaktionen des Gemisches der beiden Saponine von **Kobert** mit

1. Fehling: Intensive Grasgrünfärbung; beim kurzen Kochen keine Reduktion.
2. Neßler: Gekocht, dunkler Niederschlag.
3. Ferricyankalium + Ferrichlorid: Grünblaufärbung.
4. Schwefelsäure, konz.: Braunroter Ring, unwesentlich.
5. Millon: Gekocht nichts.
6. Furfurolschwefelsäure: Unwesentlicher Ring.
7. Benzaldehyd + Schwefelsäure: Unwesentlicher Ring.
8. Vanillin + Schwefelsäure: Unwesentlicher Ring.
9. α-Naphthol + Schwefelsäure: Intensive Kirschrotfärbung mit Stich in Blau.
10. Thymol + Schwefelsäure: Erst hellrott, dann langsam kirschrot werdend.

B. Tithymalus helioscopius.
(Euphorbia helioscopia.)

1. Frisches Kraut.

Die Untersuchung stammt aus dem Jahr 1913.

75 g fein zerschnittenes Kraut mit Wurzeln wurden mit 500 ccm physiologischer Kochsalzlösung und einigen Tropfen Toluol 24 Stunden

bei 38° digeriert; die abgepreßte, durch Stehen geklärte und filtrierte Flüssigkeit wurde neutralisiert, mit viel Alkohol versetzt und das abgeschiedene Phasin nach dem Auswaschen auf gewogenem Filter im Exsiccator ausgetrocknet, gewogen und zu 20 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst. Ausbeute: 0,700 g = 0,94% Rohphasin; lösliches reines Phasin 0,428 g = 0,67%.

1 ccm der Lösung entsprach 4,0 g frischem Kraut
1 „ „ „ „ 25 mg reinem Phasin

Der Preßrückstand wurde auf Saponine vorarbeitet.

Phasin.

I 5 ccm NaCl + 2 Tropfen Menschenblut als Kontrolle
II 5 „ „ + 5 ccm Phasinlösung = 20 g Kraut = 125 mg Phasin

Nach 24 Stunden keine hämolytische und agglutinierende Wirkung; auch nicht auf Meerschweinchenblut.

Das Filtrat vom Phasin wird zur Entfernung des Alkohols eingedampft und auf neutrales Saponin untersucht; es wirkte in konzentrierter Lösung auf Menschenblut nicht hämolytisch, so daß das Vorhandensein eines neutralen Saponins nicht wahrscheinlich war. Es wurde daher eine Untersuchung auf

saures Saponin

vorgenommen; diese ergab eine Substanz, die auf zwei Blutarten wirkte, auf zwei andere aber gar nicht, so daß eine Wiederholung erforderlich war. Es enthielt noch größeren Farbstoff und entsprach

1 ccm der Lösung 2,0 g Kraut.

I 5 ccm NaCl + 2 Tropfen Menschenblut als Kontrolle
II 2 „ „ + 2 „ „ „ „ + 3 ccm Lösung = 6,0 Kraut, in $3^1/_2$ Stunden totale Hämolyse
III 5 ccm NaCl + 2 Tropfen Hundeblut
IV 2 „ „ + 2 „ „ + 3 ccm Lösung, nach 13 Stunden totale Hämolyse
V 5 ccm NaCl + 2 Tropfen Pferdekörperchen
VI 2 „ „ + 3 ccm Lösung, nach $5^1/_2$ Stunden totale Hämolyse
VII 5 „ „ + 2 Tropfen Rinderblut
VIII 2 „ „ + 2 „ „ + 3 ccm Lösung, nach $3^1/_2$ Stunden totale Hämolyse.

Ergebnis. Das frische ganze Kraut enthält ein saures Saponin, dessen Gehalt in 6 g Kraut auf vier Blutarten in verschiedenen Zeiten hämolytisch wirkt.

Verdünnungen.

M = Menschenblut, P = Pferd, R = Rind.

I	3 ccm NaCl	+ 2 ccm Lösung	M	Nach 7 Stunden totale Hämolyse
II	4 „ „	+ 1 „ „	M	
III	3 „ „	+ 2 „ „	P	
IV	4 „ „	+ 1 „ „	P	
V	3 „ „	+ 2 „ „	R	Nach 24 Stunden keine Wirkung
VI	4 „ „	+ 1 „ „	R	

Ergebnis. Das ungereinigte, noch chlorophyllhaltige saure Saponin wirkte auf Menschen- und Pferdeblut noch bei einem Gehalt von 2,0 g frischem Kraut zu 5 ccm total hämolytisch nach 7 Stunden; auf Rinderblut bei 6 g noch $5\,^1/_2$ Stunden, auf Hundeblut bei 6 g erst nach 18 Stunden.

Die zweifellose Wirkung des sauren Rohsaponins verlangte eine Reinigung; daher wurde dasselbe mit Alkohol ausgekocht, das Filtrat verdunstet, der Rückstand in alkalischem Wasser gelöst und das saure Saponin durch verdünnte Salzsäure ausgefällt, auf dem Filter vollständig ausgewaschen, mit Äther das Chlorophyll entfernt und das so gereinigte Saponin wieder in $0{,}9\,^0/_0$ Kochsalz unter Zugabe von Sodalösung zu einer neutralen Flüssigkeit gebracht, von der

1 ccm = 2 g Kraut entsprach.

Mit diesem gereinigten sauren Saponin wurden nunmehr erneute Blutversuche angestellt.

I	5 ccm NaCl + 2 Tropfen Menschenblut als Kontrolle	
II	3 „ „ + 2 „ „ + 2 ccm Lösung + 4,0 g Kraut	ohne Wirkung
III	4 ccm NaCl + 1 ccm Lösung = 2 g Kraut	
IV	5 „ „ + 2 Tropfen Rinderblut	
V	3 „ „ + 2 „ „ + 2 ccm Lösung,	
VI	4 „ „ + 2 „ „ + 1 „ „	
VII	2 „ „ + 2 „ Hundeblut	totale Hämolyse n. 18 Std.
VIII	3 „ „ + 2 „ „ + 2 ccm Lösung	
IX	4 ccm NaCl + 2 „ „ + 1 ccm „	
X	5 ccm NaCl + 2 Tropfen Meerschweinchenblut	totale Hämolyse n. 16 Std.
XI	3 ccm NaCl + 2 Tr. Meerschweinchenblut + 2 ccm Lösung	
XII	4 ccm NaCl + 2 Tr. Meerschweinchenblut + 1 ccm „	

Ergebnis: Aus diesen Versuchen sowie aus denen mit Rohsaponin angestellten ergibt sich die auffallende Erscheinung, daß die Wirkung auf Menschenblut und Rinderblut die gereinigte Saponinsäure dieser Wolfsmilchart eine auswählend hämolytische ist, weil auf Hundeblut und Meerschweinchenblut totale Hämolyse, wenngleich nach langer Zeit, bewirkt wurde.

Saures Sapogenin.

30 ccm Lösung der Saponinsäure = 60,0 g Kraut wurden mit verdünnter Schwefelsäure versetzt und eine Stunde lang in das siedende Wasserbad eingestellt; es entstand eine dunkle Ausscheidung von saurem Sapogenin, das nach Filtration, Auswaschung wieder in 30 ccm Kochsalzlösung — $0{,}9\,^0/_0$ — gelöst wurde und somit in

1 ccm = 2 g frisches Kraut enthielt.

Bei der Prüfung mit Menschenblut ergab es sich, daß nach 24 Stunden keine hämolytische Wirkung eintrat.

Wiederholung des Versuchs mit **trocknem** Kraut der Firma **Caesar & Loretz-Halle.**

50 g dieses trocknen Krautes wurden wie das frische Kraut alkalisch ausgekocht, die abgepreßte Flüssigkeit nach dem Klären durch Säure die Saponinsäure ausgefällt, der voluminöse Niederschlag ausgepreßt, auf dem Filter ausgewaschen und noch feucht mit Methylalkohol ausgekocht, um gereinigte Saponinsäure zu erhalten. Die alkoholische Flüssigkeit wurde nach der Filtration konzentriert, durch viel Äther die Saponinsäure wiederum ausgefällt und auf dem gewogenen Filter völlig ausgetrocknet. Hierbei wurden 0,240 g Saponinsäure erhalten, die, zu 60 ccm physiologischer Kochsalzlösung gelöst, in

1 ccm = 40 mg enthielt.

Die Wirkung auf Menschenblut und Hammelblutkörperchen war so intensiv, daß sofort eine zehnfache Verdünnung hergestellt wurde, die also in

1 ccm = 4 mg enthielt.

I 5 ccm NaCl + 1 Tropfen Hammelblutkörperchen als Kontrolle,
II 1 ccm NaCl + 1 Tropfen Hammelblutkörperchen als Kontrolle + 4 ccm Lösung = 16 mg Saponinsäure,
III 2 ccm NaCl + 1 Tropfen Hammelblutkörperchen als Kontrolle + 3 ccm Lösung = 12 mg Saponinsäure,
IV 3 ccm NaCl + 1 Tropfen Hammelblutkörperchen als Kontrolle + 2 ccm Lösung = 18 mg Saponinsäure,
V 4 ccm NaCl + 1 Tropfen Hammelblutkörperchen als Kontrolle + 1 ccm Lösung = 4 mg Saponinsäure.

Ergebnis: In den Gläschen II bis V trat während der Nacht — 12 Stunden — totale Hämolyse ein, so daß eine nochmalige zehnfache Verdünnung sich nötig machte.

Da jedoch auch diese Verdünnung, die in 1 ccm 0,4 mg der Saponinsäure enthielt, eine totale Hämolyse auf Hammelblutkörperchen bewirkte, verdünnte ich nochmals um das Zehnfache; daher enthielt

1 ccm = 0,04 mg.

Nunmehr trat keine Wirkung ein, selbst nicht nach 30 Stunden, so daß das

Ergebnis war: Die saure Saponin = Saponinsäure des trocknen Krautes bewirkte bei 0,4 mg zu 5 ccm nach 5 Stunden totale Hämolyse, so daß sich der Wirkungswert auf 0,4:5000, 4:50000 = 1:12000 berechnete.

Saures Sapogenin.

40 ccm Lösung der Saponinsäure = 1,60 g wurden mit verdünnter Schwefelsäure eine Stunde im Wasserbad zerkocht und 58 mg = $^1/_3$ Saponinsäure — Sapogenin erhalten, die zu 58 ccm in physiologischer Kochsalzlösung aufgelöst wurden, entsprechend 1 ccm = 10 mg Sapogenin.

I 5 ccm NaCl + 1 Tropfen Hammelblutkörperchen als Kontrolle, II 5 ccm NaCl + 1 Tropfen Hammelblutkörperchen als Kontrolle + 5 ccm Lösung = 50 mg, III 1 ccm NaCl + 1 Tropfen Hammelblutkörperchen als Kontrolle + 4 ccm Lösung = 40 mg, IV 2 ccm NaCl + 1 Tropfen Hammelblutkörperchen als Kontrolle + 3 ccm Lösung = 30 mg,	totale Hämolyse nach 7 Stunden
V 3 ccm NaCl + 1 Tropfen Hammelblutkörperchen als Kontrolle + 7 ccm Lösung = 20 mg, VI 4 ccm NaCl + 1 Tropfen Hammelblutkörperchen + 1 ccm Lösung = 10 mg	totale Hämolyse nach 18 Stunden

Verdünnung 1 ccm = 1 mg

wie gewöhnlich absteigend 5 ccm auf 1 ccm, mit Hammelblutkörperchen am nächsten Morgen bis 2 mg : 5000 war totale Hämolyse eingetreten, bei 1 mg nur partiell.

Ergebnis: 2 mg saures Sapogenin zu 5 ccm bewirken nach mehreren Stunden totale Hämolyse; daher ist der Wirkungswert 2 : 5000 = 1 : 2500; auf Menschenblut wirkte das Sapogenin nicht.

Die von saurem Saponin abfiltrierte Flüssigkeit enthielt das neutrale Saponin; es wurden hiervon 23 mg erhalten und zu 23 ccm gelöst; 1 ccm = 10 mg = 2,174 g Kraut. Hammelblutkörperchen wurden nach langer Zeit hämolytisch gelöst bei 3 ccm : 5000, d. h. 30 : 5000 = 1 : 167, das als Wirkungswert gekennzeichnet ist.

C. Euphorbia Peplus.

70 g frisches Herbstgartenkraut wurde klein zerschnitten mit 500 ccm physiologischer Kochsalzlösung und etwas Toluol 48 Stunden bei 38° digeriert; das Digestat abgepreßt, absetzen lassen, filtriert und durch das gleiche Volumen Alkohol das Phasin gefällt. Der Preßrückstand wurde alkalisch ausgekocht, um auf Zusatz von Säure zu der geklärten und filtrierten Flüssigkeit ein saures Saponin — Saponinsäure auszufällen; das Filtrat schließlich auf ein neutrales Saponin untersucht. Es ergab sich nun, daß das Phasin auf Menschenblut ohne Wirkung war, indem weder Hämolyse noch Agglutination eintrat. Auch die neutralisierte Originaldigestionsflüssigkeit war wirkungslos.

Saures Saponin.

1 ccm = 2 g Kraut.

Eine Wiederholung mit 100 g frischem Kraut ist nachfolgend mitgeteilt:

	Ansatz		Ergebnis
I	5 ccm NaCl + 2 Tropfen Menschenblut als Kontrolle.		
II	— 2 „ „	+ 5 ccm Lösung = 10 g Kraut	nach 2 Stunden totale Hämolyse
III	1 ccm NaCl + 2 Tropfen „	+ 4 ccm Lösung = 8 g Kraut	
IV	2 ccm NaCl + 2 Tropfen „	+ 3 ccm Lösung = 6 g Kraut	
V	3 ccm NaCl + 2 Tropfen „	+ 2 ccm Lösung = 4 g Kraut	
VI	4 ccm NaCl + 2 Tropfen „	+ 1 ccm Lösung = 2 g Kraut	nach 3 Stunden totale Hämolyse

	Ansatz		Ergebnis
I	5 ccm NaCl + 1 Tropfen Hammelblutkörperchen als Kontrolle.		
II	3 „ „ + 1 „ „	+ 2 ccm Lösung = 4 g Kraut	nach 3 Stunden Hämolyse
III	4 ccm NaCl + 1 Tropfen „	+ 1 ccm Lösung = 2 g Kraut	
IV	9 ccm NaCl + 1 Tropfen „	+ 1 ccm Lösung = 1 g Kraut	

Wiederholung der Auskochung.

100 g frisches zerkleinertes Kraut wurde mit alkalischem Wasser ausgekocht, abgepreßt, die geklärte Flüssigkeit mit Salzsäure übersättigt, das ausgefällte saure Saponin auf dem Filter ausgewaschen, möglichst abgepreßt und mit Methylalkohol ausgekocht. Die alkoholische Lösung wurde konzentriert, nochmals filtriert und durch Äther das gereinigte saure Saponin ausgefällt, auf gewogenem Filter gesammelt, ausgewaschen, trocken gesaugt und nach dem Trocknen bei 100° C. das Ausbeutegewicht bestimmt; erhalten wurden 43 mg Saponinsäure, es enthält hiervon also

1 g Kraut = 0,43 mg,

so daß der Grenzwert für Menschenblut und Hammelblutkörperchen 0,43 : 10 000 = 1 : 23250 berechnet wurden. 15 ccm der Saponinlösung wurden mit verdünnter Schwefelsäure eine Stunde im siedenden Wasserbad zerkocht und dabei ein saures Sapogenin erhalten.

Saures Sapogenin.

1 ccm = 2 mg Kraut.

Im Filtrat fand sich weder Glucuronsäure, Glucose und Pentosen.

	Ansatz		Ergebnis
I	5 ccm NaCl 2 Tropfen Menschenblut als Kontrolle.		
II	2 „ „	5 cm Lösung = 10 g Kraut	am nächsten Morgen nach 16 Stunden keine Wirkung.
III	2 ccm NaCl 2 Tropfen „	+ 3 cm Lösung = 6 g Kraut	
IV	4 ccm NaCl 2 Tropfen „	+ 1 ccm Lösung = 2 g Kraut	
V	9 ccm NaCl 2 Tropfen „	+ 1 ccm Lösung = 1 g Kraut	

Ergebnisse: Ein wirksames saures Sapogenin ist beim Zerkochen des sauren Saponins nicht erhalten worden.

Das vom sauren Saponin erhaltene Filtrat, ein neutrales Saponin enthaltend, wurde neutralisiert, eingetrocknet, mit Methylalkohol der Rückstand ausgekocht, diese Lösung konzentriert, das neutrale Saponin durch Äther gefällt und in physiologischer Kochsalzlösung gelöst, so daß

1 ccm = 2 g Kraut entsprach.

I 5 ccm NaCl 2 Tropfen Menschenblut als Kontrolle.
II — 5 ccm Lösung = 10 g Kraut
III 2 „ „ + 3 ccm „ = 6 g „
IV 4 „ „ + 1 ccm „ = 1 g „

Nach 5 Stunden bewirkten 5 ccm Lösung totale Hämolyse, 3 ccm und 1 ccm waren ohne Wirkung.

Ergebnis: Euphorbia Peplus enthält auch ein neutrales, wenngleich schnell wirkendes Saponin. Der Wirkungswert berechnet sich auf Kraut

10 : 5 = 1 : 0,5.

15 ccm der Lösung werden mit Säure zerkocht; das erhaltene Sapogenin wirkte selbst bei 15 g Kraut auf Menschenblut nicht ganz wie das saure Sapogenin.

D. Mercurialis perennis.

450 g frisches Novemberkraut wurde zerschnitten und mit 2,5 l alkalischen Wassers ausgekocht; die abgepreßte Flüssigkeit nach dem Klären mit verdünnter Salzsäure übersäuert, das abgeschiedene saure Saponin auf dem Filter gesammelt, nach dem Abtropfen etwas zwischen Filtrierpapier ausgepreßt und mit Methylalkohol ausgekocht. Das saure Filtrat wurde mit verdünnter Schwefelsäure zerkocht und dadurch ein neutrales Sapogenin abgeschieden. Im Filtrat konnte durch Esbach-Reagenz zwar nicht, aber durch Meyer-Reagenz das giftige Mercurialin nachgewiesen werden.

Das Sapogenin wurde durch Essigäther gereinigt, indem das aus Methylalkohol abgeschiedene als ein schwarzes Produkt, durch Essigäther dagegen ein weißes Sapogenin erhalten wurde.

In den Vorversuchen bewirkte das saure Saponin in kurzer Zeit totale Hämolyse mit Menschenblut; das neutrale Sapogenin wurde in physiologischer Kochsalzlösung gelöst und auf 45 ccm gebracht, so daß

1 ccm = 10 g frisches Kraut

entsprach.

3 ccm dieser Lösung = 30 g Kraut bewirkten momentan totale Hämolyse bei Menschenblut und Hammelblutkörperchen. Wirkung: 1 : 0,2.

Es sind also in der Mercurialis perennis zwei Saponine enthalten: ein saures und ein neutrales, dessen Sapogenin geprüft wurde. Das saure Saponin bewirkte bei großen Dosen auf Menschenblut nach mehreren Stunden hämolytisch: 3 cm = 27 g trocknes Kraut der im November gesammelten Pflanze totale Hämolyse: Der Wirkungswert war also 27:5 = 1:0,20.

Eine ausführliche Untersuchung findet sich bei Kobert: „Neue Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen, II. Teil".

Als Fortsetzung meiner Arbeiten — die in dieser Zeitschrift veröffentlicht sind — über den Gehalt verschiedener Organe und Drogen an Kieselsäure, Tonerde und Eisen habe ich nunmehr die rückständigen Untersuchungen Koberts bei einer größeren Anzahl — 40 bis 50 — Vegetabilien auf Saponine begonnen, aber nicht nur auf Saponine, sondern auch auf den Gehalt an Kieselsäure, Tonerde und Eisen ausgedehnt; ich behalte mir daher vor, dieses Thema als meine Domäne zu betrachten, bis die betreffenden Untersuchungen — vielleicht mit dieser Arbeit — zum Abschluß gelangt sind.

Beiträge zur Physiologie der Drüsen.

Von

Leon Asher.

39. Mitteilung.

Das Verhalten des weißen Blutbildes beim normalen, schilddrüsenlosen und milzlosen Tier unter Einwirkung von Sauerstoffmangel.

Von

Fr. Hermann Messerli.

(Aus dem physiologischen Institut der Universität Bern.)

(Eingegangen am 31. Mai 1919.)

Mit 1 Figur im Text.

Einleitung.

Unter den Problemen, mit denen sich die Lehre von der inneren Sekretion zu befassen hat, steht mit im Vordergrunde des Interesses die Tatsache, daß die einzelnen Organe, denen man eine innere Sekretion zuspricht, nicht allein durch diese Sekretbildung wirken, sondern vor allem auch dadurch, daß sie in das Geschehen anderer Organe in regulierender oder modifizierender Weise eingreifen. Es ist schon mehrfach gerade aus dem Berner Institute darauf hingewiesen worden, daß eine besondere Schwierigkeit der Erkenntnis der Funktionsweise der sog. Drüsen mit innerer Sekretion darin beruht, daß sie nicht notwendigerweise eine unabhängige Eigenfunktion besitzen, vielmehr in die Funktionsweise anderer Organe eingreifen, die nicht unbedingt auf dieses Eingreifen in ihrer Leistungsfähigkeit für die Erhaltung des Lebens angewiesen sind. In her-

vorragender Weise gilt diese Betrachtungsweise von der Milz, von der durch eine Reihe aus dem Berner Institut hervorgegangener Arbeiten gezeigt werden konnte, daß sie in die Tätigkeit verschiedener Organe eingreift, ganz abgesehen von der ihr eigentümlichen Rolle im Eisenstoffwechsel, die vielleicht in letzter Linie auf das Prinzip des Zusammenwirkens mit andern Organen zurückzuführen ist.

Ebnöther konnte zeigen, daß die Milz zwei Funktionen der Leber in ausgesprochener Weise beeinflußt, indem sie sowohl die blutkörperchenauflösende wie die hämoglobinabbauende Tätigkeit der Leber merklich aktiviert. Nach der morphologischen Seite konnte neuerdings Lepehne sehr interessante Tatsachen feststellen, die in letzter Linie nach der gleichen Richtung deuten.

In neuester Zeit haben die Untersuchungen von Streuli und diejenigen von Danoff gezeigt, daß die Milz in Wechselwirkung mit der Schilddrüse steht, indem die beiden Organe in entgegengesetzter Weise den respiratorischen Stoffwechsel beeinflussen. Schon vor diesen beiden letztgenannten Arbeiten hatte Dubois den Beweis erbringen können, daß die Milz auch in Beziehung steht zum Knochenmark, und auch hierbei lehrten die Beobachtungen, daß Milz und Schilddrüse in einer anscheinend entgegengesetzten Art und Weise auf die Funktion des Knochenmarks einwirken. Es lag in der Natur der Sache, daß Dubois in der Beurteilung der Beziehung zwischen Milz und Knochenmark, sowie auch zwischen Schilddrüse und Knochenmark sich zunächst auf eine reine histologische Methodik beschränken mußte, indem er das Blutbild, d. h. das relativ-quantitative Verhalten der einzelnen weißen Blutkörperchenarten bei normalen, bei milzlosen und schilddrüsenlosen Tieren untersuchte. Durch die soeben genannten Arbeiten von Streuli und Danoff, sowie auch durch die frühere von Sollberger war es nun nahegelegt, eine Verbindung zwischen der Beeinflussung des Knochenmarkes durch Milz und Schilddrüse und der Beeinflussung des respiratorischen Stoffwechsels der genannten Organe herzustellen. Daher folgte ich der Anregung von Prof. Asher, die Beziehungen von Schilddrüse und Milz zum Knochenmark einer erneuten Untersuchung zu unterziehen, wobei gleichzeitig die Beziehung zum respira-

torischen Stoffwechsel in einer ausgesprocheneren Weise mit einbezogen werden sollte, als seinerzeit für Dubois Veranlassung vorlag. Diese Untersuchung sollte auch mit dazu dienen, durch eine neu angelegte Versuchsreihe die Tatsachen von Dubois, die seither gewissen Mißverständnissen ausgesetzt gewesen sind, zu überprüfen.

Der Plan meiner Untersuchung bestand darin, bei normalen, bei schilddrüsenlosen und bei milzlosen Tieren fortlaufend das relative Blutbild zu untersuchen, nachdem die Tiere eine gewisse Zeit lang unter dem Einflusse von verminderter Sauerstoffzufuhr gestanden hatten. Bei diesem Verfahren leitete mich der Gedanke, daß wir seit Mieschers grundlegenden Anregungen in einem selbst kleinen Sauerstoffmangel einen wirksamen Reiz für die blutbildenden Apparate, somit vor allem für das Knochenmark zu sehen gewohnt sind. Durch Anwendung von Sauerstoffmangel konnte ich gewissermaßen eine funktionelle Prüfung der Leistungsfähigkeit des Knochenmarks vornehmen, wobei der Indicator für den Erfolg das Blutbild war. Die hier entwickelte Betrachtungsweise hat natürlich auch Beziehung zu den interessanten Arbeiten von Mansfeld, Beziehungen, die schon in früheren einschlägigen Arbeiten des Berner Physiologischen Institutes hervorgehoben worden sind.

Bevor ich auf die Besprechung der Versuchsanordnung eingehe, seien zur allgemeinen Orientierung in Kürze die Resultate der Arbeit Dubois' angeführt.

Dubois zeigte, daß die Milzexstirpation bei eisenreich ernährten Tieren zu einer vorübergehenden Erhöhung des Hämoglobins und der Erythrocytenzahl führte; als Ursache sieht er einen direkten Reiz des Knochenmarks an. Im weißen Blutbild tritt eine Zunahme der Knochenmarkselemente auf, die mit der Zeit einer dauernden Lymphocytose Platz macht.

Die Entfernung der Schilddrüse bewirkt eine geringe Abnahme der Erythrocytenzahl, während das Hämoglobin wesentlich auf der gleichen Höhe bleibt. Er führt dies auf eine latente Hemmung des erythroblastischen Systems zurück. Im weißen Blutbild ruft die Thyreoidektomie eine sofort einsetzende relative Lymphocytose hervor.

Werden Milz und Schilddrüse zugleich weggenommen, so entsteht eine leichte Herabsetzung des Hämoglobins und eine verhältnismäßig bedeutendere Abnahme der Erythrocyten. Die Erscheinung tritt nicht ein, wenn die Schilddrüse an einem früher entmilzten Tier weggenommen

wird, weil der durch die Wegnahme der Milz bedingte Reiz auf das Knochenmark im Sinne einer Erregung fortbesteht. Dubois zieht daraus den Schluß, daß zwischen Milz und Schilddrüse in bezug auf die Blutbildung eine Art Antagonismus besteht; die Schilddrüse würde im Sinne einer Erregung, die Milz im Sinne einer Hemmung wirken.

Der kurzdauernde Reiz des Sauerstoffmangels, hervorgerufen durch einmalige subcutane Injektion einer geringen Menge von Cyanwasserstoff, bewirkt bei Normaltieren eine kurzdauernde Abnahme von Hämoglobin und Leukocytenzahl; Regeneration bis zur Norm. Beim milzlosen Tier ist der Sturz geringer und führt zu einer Regeneration über die Norm hinaus. Beim schilddrüsenlosen Tier führt auch eine doppelte Dosis Cyanwasserstoff keine Veränderung im Blutbild herbei. Doppelt operierte Tiere reagieren wieder wie Normaltiere. Der kurzdauernde, experimentelle Sauerstoffmangel durch Cyanwasserstoff verändert das weiße Blutbild im Sinne einer Lymphocytose, die beim intakten und doppelt operierten Tier besonders deutlich, beim milzlosen Tiere weniger, beim schilddrüsenlosen gar nicht zum Ausdruck kommt. Beim Normaltier kehren aber bald normale Verhältnisse wieder; beim entmilzten bleibt dauernd eine geringe Lymphocytose, während beim schilddrüsenlosen Tier infolge herabgesetzter Reaktionsfähigkeit der Reiz weder im positiven noch im negativen Sinne wirkt.

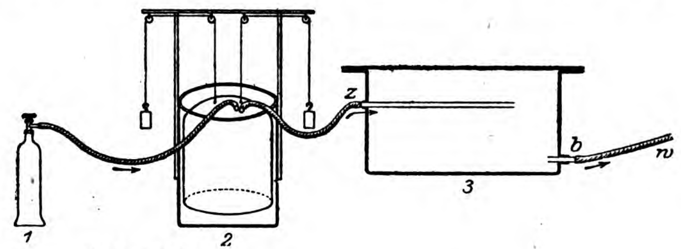
Zum Schlusse erzeugte Dubois am Kaninchen eine vorübergehende Anämie, hervorgerufen durch einmalige subcutane Injektion von Phenylhydrazin. Es handelte sich wesentlich darum, die Regeneration der Anämie zu untersuchen. Künstlich anämisch gemachte milzlose Tiere erholen sich rascher wie Normaltiere; dabei Überproduktion der Erythrocyten. Schilddrüsenlose Tiere dagegen beanspruchen eine längere Erholungszeit als Normaltiere; die Norm wird nicht mehr vollständig erreicht. Fehlen beide Organe, so gestalten sich die Verhältnisse wieder wie beim Normaltier. Im weißen Blutbild dokumentiert sich die vorübergehende künstliche Anämie außer bei schilddrüsenlosen Tieren auch in einer größeren Knochenmarkstätigkeit, und zwar in einer Vermehrung der weißen Knochenmarkszellen; ohne Schilddrüse ist also das Knochenmark gehemmt.

Versuchsanordnung, Methodik, Operationen.

Um den oben skizzierten Versuchsplan auszuführen, habe ich mich der nachfolgenden Anordnung bedient:

Zur Füllung des Waldenburgschen pneumatischen Apparates (2) wird eine Stickstoffstahlflasche (1) benutzt. Ferner haben wir den Versuchskasten (3), oben luftdicht abgeschlossen mit einer an- und abschraubbaren Glasplatte, die auf einem dicken Gummiring aufliegt. Die Maße des Blechkastens sind: 50 cm lang, 30 cm breit, 40 cm hoch. Der Kasten besitzt eine Zuleitungsöffnung (*z*) und eine Ableitungsöffnung (*b*), welche letztere im weitern Verlauf mit einer Aspirationsvorrichtung, einer Wasserstrahlpumpe (*W*) versehen ist.

Der Betrieb gestaltet sich folgendermaßen: Zuerst wird das Pneumatometer von der Stickstoffstahlflasche aus gefüllt. Der Stickstoff wird durch ein Ansatzrohr in ein über Wasser, durch Gewichte in Gleich-



1 = Stickstoffflasche.
2 = Waldenburgscher pneumatischer Apparat.
3 = Versuchskasten. *z* = Zuleitungsöffnung. *b* = Ableitungsöffnung.
W = Wasserstrahlpumpe.

gewicht gehaltene, aufgehängte, graduierte Gasometerglocke geleitet. Hernach wird die Verbindung von Stickstoffbombe und Waldenburgschem Apparat aufgehoben und eine solche hergestellt zwischen letzterem und dem Versuchskasten, der groß genug ist, um 3 Tiere aufzunehmen. Setzt man nun die Wasserstrahlpumpe in Funktion, so strömt durch Absaugen ununterbrochen unter geringem negativem Druck der Stickstoff durch den Kasten. Das Durchströmen erfolgt sehr langsam. Das Pneumatometer muß natürlich jeweilen wieder nachgefüllt werden.

Über die sauerstoffarme Atmungsluft sei noch folgendes beigefügt: Der Stickstoff ist nicht rein. Die Kriegsverhältnisse haben es bedingt, daß der in Bomben zur Verfügung stehende Stickstoff nicht rein war. Er enthält nach den Bestimmungen im Berner Physiologischen Institut 12 % Sauerstoff. Wir wissen, daß die atmosphärische Luft aus 20 Volumenprozenten O_2, 79 Volumenprozenten N und 1 Volumenprozent anderen Gasen zusammengesetzt ist. Die in den Versuchen benutzte Sauerstoffarmut möchte ich als eine physiologische Sauerstoffarmut bezeichnen, wenn man so sagen darf, da sie einer Sauerstoffarmut entspricht, in der die Menschen noch gut leben können, z. B. auf einer Höhe von über 2000 m, einer Höhe also, wo man von therapeutischen Erfolgen der Sauerstoffarmut spricht. Über das Atmen in sauerstoffärmeren Gasgemischen schreibt Landois:

Menschen und Tiere können gefahrlos noch ein Luftgemisch atmen, in dem nur 9 % an Sauerstoff sind, bei 10 % tritt vertieftes Atmen, bei 8 % Unbehagen ein. Tiere wurden bei 7 % schweratmig und bewußtlos, bei 4,5 % Sauerstoff tritt hochgradige Dyspnoe, bei 3 % Sauerstoff ziemlich rasche Erstickung ein.

Meine Versuchstiere zeigten nun in den ersten 2 Stunden gesteigerte Atmung nach Zahl und Tiefe, bisweilen geringe Unregelmäßigkeit. Der minimale negative Druck kann nicht die Ursache sein,

zweifelsohne ist es die Verminderung der Sauerstoffspannung. Allerdings kehrten nach 2 bis $2^1/_2$ Stunden normale Atmungsverhältnisse wieder, eine Erscheinung, die ich als Gewöhnung registrieren möchte.

Das histologische Blutbild wurde an Ausstrichpräparaten auf Objektträgern untersucht. Das Blut entnahm ich den Ohrvenen des Kaninchens, nachdem ich vorher die Haare geschnitten, das Ohr sorgfältig mit Alkohol und Äther gereinigt und mit einem Tuch noch getrocknet hatte, da sonst der hervorquellende Blutstropfen auf der Haut sich zu sehr ausgebreitet hätte. Die Eröffnung der Vene erfolgte durch schräges Einstechen mit einer sterilen Stecknadel; die kleine Wunde schloß sich jeweilen sehr rasch und spurlos. Die zur Verwendung kommenden Objektträger und das geschliffene Deckgläschen wurden aufs vorsichtigste mit einer Äther-Alkohol-Mischung von Fettspuren befreit. Die Herstellung, d. h. das Ausstreichen der Trockenpräparate, besorgte ich nach den Angaben im Sahlischen Lehrbuch der klinischen Untersuchungsmethoden. Nach mehrstündiger Lufttrocknung fixierte ich sämtliche Präparate durch Einlegen derselben während 5 bis 10 Minuten in absoluten Methylalkohol. Das Verfahren schien mir notwendig, weil die Erfahrung zeigte, daß die Kriegsqualität der Farblösungen sehr schlecht und wechselnd war.

Zur Färbung wurden die fixierten Präparate in ein Schälchen mit der betreffenden Farblösung eingelegt; nur bei der Jenner-Färbung benutzte ich die Cornetsche Pinzette und tropfte die Farbe auf die bestrichene Seite des Objektträgers. Von den vielen Methoden wählte ich speziell zwei, nämlich nach Jenner-May und Romanowsky-Giemsa.

Methode Jenner-May: 2 bis 3 Minuten Farblösung, einige Sekunden Abspülen mit destilliertem Wasser und Trocknen mit Filtrierpapier und gelinder Erwärmung.

Methode Romanowsky-Giemsa: Nach der Fixation kamen die Präparate $^1/_2$ bis $^3/_4$ Stunden mit der Farblösung in Berührung; dann kurzes Abspülen in Brunnenwasser und Trocknen wie oben. Die Farblösung wurde jedesmal frisch bereitet im Verhältnis von 1 Tropfen Farbe zu 1 ccm destillierten Wassers. Mitunter habe ich bei Anwendung dieser Methode nach Jenner-May vorgefärbt und so sehr schöne Präparate erzielt.

Die Besichtigung der Präparate geschah mit Ölimmersionslinse und offener Blende. Ölimmersion Leitz 1/12, Okular 1, Tubuslänge 170 mm, Vergrößerung 570. Durchgezählt wurden immer 300 bis 350 weiße Blutkörperchen.

Das Arnethsche neutrophile Blutbild stellt eine Differenzierung der polymorphkernigen Leukocyten dar nach der Zahl der Kerne; die Myelocyten schließt Arneth mit ein als einkernige Zellen, stellen sie ja die unreifen Vorstufen oder Jugendformen der polymorphkernigen neutrophilen Leukocyten dar. Einkernige Formen sind junge Individuen, mehrkernige ältere. Arneth und auch Schindler haben dann gezeigt, daß bei den Leukocytosen der Infektionskrankheiten häufig

neben reifen polymorphkernigen Leukocyten auch deren unreife Vorstufen, die Myelocyten, vorkommen. Das Maß, in dem solche unreife Formen auftreten, gibt einen Anhaltspunkt für den Grad der Inanspruchnahme des Knochenmarks. Diese Befunde legten es nahe, auch bei den folgenden Versuchen das Arnethsche neutrophile Blutbild zu untersuchen, um in der Deutung der Resultate vielleicht einen Schritt weiter zu kommen, indem aus den Qualitätsverschiedenheiten der weißen Blutkörperchen unter Umständen weitergehende Schlüsse möglich sind.

Die Kaninchen wurden wie gewöhnlich ernährt; Ernährungsstörungen traten keine auf; die Blutentnahme erfolgte zu gleichen Zeiten, um etwaige Fehler auszuschließen. Es ist ja bekannt, daß z. B. das weiße Blutbild nach der Nahrungsaufnahme sich ändert. Die Tiere wurden täglich 5 bis 6 Stunden in sauerstoffarme Luft gesetzt; mit wenigen Ausnahmen fertigte ich alle drei Tage Ausstrichpräparate an.

Die Operationen (Thyreoidektomie und Splenektomie) zeigten keine Besonderheiten. Die Methoden sind ausführlich in den Arbeiten von Dubois und Streuli beschrieben. Selbstverständlich wurden die Operationen unter Wahrung strengster Asepsis ausgeführt. Alle Wunden heilten per primam intentionem. Bei der Milzexstirpation wählte ich die mediane Laparotomie wegen der physiologischeren Schnittführung und infolgedessen besseren Heilung.

Das normale histologische Blutbild und seine Beeinflussung durch Sauerstoffmangel.

Dubois hat in seiner Arbeit dargetan, daß während drei Monaten die Werte sowohl für das quantitative als auch für das relative Blutbild ziemlich konstant blieben, so daß also die Veränderungen, die sich bei den verschiedenen operierten Tieren darboten, auf den Eingriff zurückzuführen waren. Ich möchte nun einige Protokolle folgen lassen, die das histologische Blutbild meiner Normaltiere festhalten.

Tabelle I.

Relatives Blutbild bei Normaltieren.

Datum		Lymphocyten	Polymorphk. Leukocyten	Übergangsformen	Gr. Mononucleäre	Basophile
I. Tier	17. I. 19	45,3	44,3	2,5	1,0	1,9
	19. I. 19	49,9	42,0	4,1	2,7	1,0
	22. I. 19	49,0	45,4	3,1	2,5	0
	24. I. 19	44,8	45,0	3,6	4,2	2,4
	28. I. 19	42,4	48,3	4,7	3,8	0
II. Tier	19. II. 19	41,1	49,1	5,0	3,0	1,8
III. Tier	1. III. 19	40,0	51,4	5,3	2,3	1,0
	3. III. 19	39,8	52,1	4,7	2,4	0
IV. Tier	10. III. 19	39,3	52,4	3,2	1,5	3,6

Wir sehen, daß bei den verschiedenen Tieren Schwankungen vorhanden sind, die bei den 3 letzten Tieren vielleicht auf Untersuchungsfehlern beruhen und zweifellos auch schon physiologischerweise vorkommen. Die Differenz der Werte von Tier 1 (größere Lymphocytenzahl) gegenüber den Werten der übrigen Tiere muß besonders auffallen. Zur Erklärung möchte ich darauf hinweisen, daß Tier 1 ein jugendliches, 4 Monate altes ist, während die übrigen Kaninchen ausgewachsen sind. Wir wissen nun, daß das numerische Verhalten der einzelnen Leukocytenarten in den verschiedenen Altersstufen bestimmten Veränderungen unterworfen ist; so nachgewiesen an Kindern. Die Gesamtzahl der weißen Blutelemente im Kubikmillimeter ist die gleiche wie bei Erwachsenen. Während bei kleinen Kindern die Zahl der Lymphocyten größer ist als diejenige der neutrophilen polymorphkernigen Leukocyten, ist bei ältern Kindern das Verhältnis umgekehrt und erreicht erst konstante Werte beim Erwachsenen. Wir sehen also, daß bei jugendlichen Individuen stets die Lymphocyten vermehrt sind, was auch bei Tier 1 der Fall ist. Damit dürfte die Sache erklärt sein. Im übrigen weist die Reihe eine ziemliche Konstanz auf.

Wie verhält sich nun das neutrophile Arnethsche Blutbild obiger Kontrolltiere?

Tabelle II.

Blutbild nach Arneth bei Normaltieren.

	Datum	Myelocyten	Form mit wenig eingebuchtetem Kern	Form mit tief eingebuchtem Kern	2kernig	3kernig	4- bis mehrkernig
I. Tier	17. I. 19	0	3	7	42	32	16
	19. I. 19	0	4	5	48	31	12
	22. I. 19	0	3	8	44	36	9
	24. I. 19	0	2	6	43	40	9
	28. I. 19	0	6	8	46	30	10
II. Tier	19. II. 19	0	2	8	45	39	6
III. Tier	1. III. 19	0	3	5	50	30	12
	3. III. 19	0	5	9	46	32	8
IV. Tier	10. III. 19	0	3	8	42	34	13

Aus der angeführten Tabelle geht hervor, daß normalerweise die 2- und 3kernigen polymorphkernigen Leukocyten an Zahl überwiegen. Es sei noch bemerkt, daß nach Arneth dem tabellarischen Blutbilde 100 Leukocyten zugrunde gelegt werden, so daß die absoluten Zahlen gleichzeitig die Prozentzahlen darstellen.

Tabelle II weist ähnlich wie Tabelle I eine gute Konstanz auf.

Welches ist nun die Wirkung des täglich mehrstündigen Sauerstoffmangels auf das Blutbild?

Tabelle III.

Relatives Blutbild unter Einwirkung von Sauerstoffmangel.

Datum		Lymphocyten	Polymorphk. Leukocyten	Übergangsformen	Gr. Mononucleäre	Basophile
I. Tier	normal: 28. I. 19	42,4	48,3	4,7	3,8	0
	nach Versuch: 31. I. 19	60,7	32,5	2,1	3,2	1,5
	nach Versuch: 6. II. 19	59,0	34,1	4,3	2,0	0,6
II. Tier	normal: 19. II. 19	41,1	49,1	5,0	3,0	1,8
	nach Versuch: 22. II. 19	61,8	30,2	3,1	5,0	0

Differenzieren wir diese Blutbilder nach Arneth, so bekommen wir Tabelle IV.

Tabelle IV.

Blutbild nach Arneth unter Einwirkung von Sauerstoffmangel.

Datum		Myelocyten	Formm. wenig eingebuchtetem Kern	Form mit tief eingebuchtetem Kern	2 kernig	3 kernig	4- bis mehrkernig
I. Tier	normal: 28. I. 19	0	6	8	46	30	10
	nach Versuch: 31. I. 19	0	4	6	50	33	7
	nach Versuch: 6. II. 19	1	6	7	53	23	10
II. Tier	normal: 19. II. 19	0	2	8	45	39	6
	nach Versuch: 22. II. 19	0	3	5	47	34	11

Der geringgradige, täglich mehrstündige Sauerstoffmangel bietet in bezug auf das weiße Blutbild der Normaltiere interessante Veränderungen dar. Wenn wir uns die Tabelle III vor Augen halten, so konstatieren wir bei beiden Versuchstieren eine deutlich ausgesprochene Lymphocytose, eine Erscheinung, die wir, offen gestanden, eigentlich nicht erwartet haben; soll doch Sauerstoffmangel ein Reiz fürs Knochenmark sein und die Knochenmarkselemente anregen. Auch im Arnethschen Bilde findet man keine Zeichen einer gesteigerten Knochenmarkstätigkeit; es verhält sich wie das normale. Es handelt sich hier also um eine stärkere Lymphopoese. Vielleicht ist der Reiz zu schwach zur Anregung des Knochenmarks, genügt aber zur Anregung des lymphatischen Systems, was in einer Lymphocytose zum Ausdruck kommt. Doch das ist bloß meine Vermutung, wahrscheinlich sind komplizierte Vorgänge im Spiele, und es dürfte außerordentlich schwer halten, aus den Befunden eine eindeutige Erklärung zu finden, sind doch unsere Kenntnisse über Lymphocyten und Lymphocytosen noch sehr mangelhaft.

Später werde ich beim Vergleich mit den andern Resultaten eine Deutung versuchen, vorläufig ist es geratener, mich einer solchen zu enthalten.

Zum Schlusse dieses Kapitels möchte ich noch kurz auf die in der Methodik angeführte Atmung der Kaninchen in sauerstoffarmer Luft zu sprechen kommen. Die nachstehenden Protokolle geben die Atemzüge pro Minute an.

Tabelle V.

Datum		Atmung zu Beginn	nach 1^h	nach 2^h	nach 4^h	nach 5^h
I. Normaltier:	29. I. 19	100	68	64	60	52
	30. I. 19	108	64	64	44	44
	31. I. 19	100	72	60	54	48
	4. II. 19	120	80	64	60	54
	5. II. 19	108	72	64	54	50
	6. II. 19	100	72	56	48	48
Thyreoidektomiertes Tier: operiert 11. II. 19	20.II.19	92	64	64	50	44
	21.II.19	88	68	64	46	40
	22.II.19	84	60	48	40	40
II. Normaltier:	20.II.19	104	80	72	72	54
	21.II.19	100	72	64	64	50
	22.II.19	108	68	60	52	52

Nach 4stündigem Verweilen in dem Versuchskasten, der von Stickstoff mit 12% Sauerstoffgehalt durchströmt wurde, war die zu Beginn aufs Doppelte gesteigerte Atemfrequenz zur Norm zurückgekehrt. Die Tiere hatten sich an die Verminderung der Sauerstoffspannung, an die von mir früher genannte physiologische Sauerstoffarmut gewöhnt. Sie saßen ruhig in Normalstellung da.

II. Das relative Blutbild des schilddrüsenlosen Tieres unter Einwirkung von Sauerstoffmangel.

Um eine klare Übersicht zu geben, lasse ich gleich die Protokolle folgen, die Ergebnisse sollen im Anschluß daran besprochen werden.

Tabelle VI.

Erstes Schilddrüsentier.

Datum		Lymphocyten	Polymorphk. Leukocyten	Übergangsformen	Gr. Mononucleäre	Basophile
	24. I. 19	44,8	45,0	3,6	4,2	2,4
	28. I. 19	42,4	48,3	4,7	3,8	0
Entfernung der Schilddrüse: 11. II. 19.						
2 Tage n. d. Operation	13. II. 19	62,0	30,6	2,0	6,4	0
unter O_2-Mangel	19. II. 19	64,1	30,0	1,6	4,0	0,3
	22. II. 19	62,3	29,2	3,5	3,9	1,1
	26. II. 19	62,0	29,6	4,2	1,9	1,3
	1. III. 19	59,7	31,8	6,0	2,5	0

Tabelle VII.

Erstes Schilddrüsentier (Arnethsches Blutbild).

Datum	Myelocyten	Form mit wenig eingebuchtetem Kern	Form mit tief eingebuchtetem Kern	2kernig	3kernig	4- bis mehr kernig
24. I. 19	0	2	6	43	40	9
28. I. 19	0	6	8	46	30	10
Entfernung der Schilddrüse: 11. II. 19.						
2 Tage n. d. Operation 13. II. 19	0	4	3	40	43	10
unter O_2-Mangel 19. II. 19	0	7	4	44	37	8
22. II. 19	0	5	6	50	29	10
26. II. 19	0	6	7	39	33	15
1. III. 19	0	8	10	41	36	5

Wie verändert sich das Blutbild nach Entfernung der Schilddrüse bei einem zweiten dazu bestimmten Tiere? Stimmen die Verhältnisse mit denen beim ersten schilddrüsenlosen Tiere überein? Wenn dem so ist, welche Schlüsse lassen sich daraus ziehen?

Tabelle VIII.

Zweites Schilddrüsentier.

Datum	Lymphocyten	Polymorphk. Leukocyten	Übergangsformen	Gr. Mononucleäre	Basophile
1. III. 19	40,8	51,4	5,3	2,3	1,0
3. III. 19	39,8	52,1	4,7	2,4	0
Entfernung der Schilddrüse: 3. III. 19.					
2 Tage n. d. Operation 5. III. 19	58,2	33,6	3,3	1,1	3,8
unter O_2-Mangel 8. III. 19	57,5	32,2	5,1	2,5	2,7
12. III. 19	60,6	31,5	4,9	1,0	2,0
19. III. 19	59,0	33,7	2,4	1,8	3,1
25. III. 19	60,4	32,3	4,0	1,3	2,0

Tabelle IX.

Zweites Schilddrüsentier (Arnethsches Blutbild).

Datum	Myelocyten	Form mit wenig eingebuchtetem Kern	Form mit tief eingebuchtetem Kern	2kernig	3kernig	4- bis mehrkernig
1. III. 19	0	3	5	50	30	12
3. III. 19	0	5	9	46	32	8
Entfernung der Schilddrüse: 3. III. 19.						
2 Tage n. d. Operation 5. III. 19	0	1	15	49	25	10
unter O_2-Mangel 8. III. 19	0	6	10	42	29	13
12. III. 19	0	8	9	41	34	8
19. III. 19	0	3	12	50	28	7
25. III. 19	0	5	12	45	34	4

Beide Tiere zeigen durch die Entfernung der Schilddrüse eine sofort einsetzende, dauernde Lymphocytose, wie schon Dubois beobachtet hat. Handelt es sich da um eine Reizung des lymphatischen Systems oder aber um eine herabgesetzte Knochenmarksfunktion? Jedenfalls ist das Hervorstechendste am Resultat der Versuchsreihe am schilddrüsenlosen Tiere, daß die länger andauernde Beeinflussung durch Sauerstoffmangel überhaupt keine Veränderung beobachten läßt. Hieraus darf der Schluß gezogen werden, daß das schilddrüsenlose Tier gegenüber demjenigen Grad von Sauerstoffmangel, den ich in meinen Versuchen angewandt habe, unempfindlich ist. Im Gleichbleiben der Arnethschen Differenzierung liegt die Bestätigung dieser Tatsache. Diese Schlußfolgerung steht mit einer ganzen Anzahl von mit anderen Methoden gemachten Beobachtungen durchaus im Einklang und bestätigt daher eine Lehre, die in der Physiologie der Funktion der Schilddrüse sich Bürgerrecht erworben hat.

Was nun speziell das Knochenmark anbelangt, dessen Unterwertigkeit bei mangelnder Schilddrüse genügend hervorgehoben worden ist, so zeigen, nach dem was ich soeben gesagt habe, meine Beobachtungen ein absolutes Nichtansprechen des Knochenmarks auf den Sauerstoffmangel; aber freilich besteht hier insofern eine große Schwierigkeit, als auch das normale Tier, nach den Knochenmarkselementen im weißen Blutbilde beurteilt, kein Ansprechen des Knochenmarks durch mein Versuchsverfahren zeigt. Die Frage, ob bei einem stärkeren Reiz eine Änderung des Blutbildes zu erzielen ist, möchte ich offen lassen; wahrscheinlich scheint mir dies nicht.

III. Das Verhalten des relativen Blutbildes beim milzlosen Tier (Kontrolltier).

Bevor ich die Reaktion des Blutbildes des milzlosen Tieres auf den täglich mehrstündigen Sauerstoffmangel betrachte, möchte ich als Kontrolle das Blutbild nach bloßer Entfernung der Milz, also ohne Einwirkung von Sauerstoffmangel, vorausschicken. Es ist das notwendig, und ich glaube, daß dadurch das Verständnis für die Veränderung des Blutbildes beim entmilzten Tier unter Einwirkung von Sauerstoffmangel wesentlich erleichtert wird.

Tabelle X.

Milzexstirpation: 25. II. 19.

Datum	Lymphocyten	Polymorphk. Leukocyten	Übergangsformen	Gr. Mononucleäre	Basophile
3. III. 19	25,0	64,5	5,2	1,9	3,4
8. III. 19	30,3	61,3	4,1	2,8	2,5
19. III. 19	41,0	49,3	4,2	1,5	3,0
21. III. 19	50,2	40,7	5,1	1,3	2,1
25. III. 19	52,5	37,7	6,4	1,1	2,3
28. III. 19	53,1	37,1	4,2	1,0	3,6

Tabelle XI.

Milzexstirpation: 25. II. 19. (Blutbild nach Arneth.)

Datum	Myelocyten	Form mit wenig eingebuchtetem Kern	Form mit tief eingebuchtetem Kern	2 kernig	2 kernig	4- bis mehrkernig
3. III. 19	1	3	12	50	23	11
8. III. 19	0	6	20	48	19	7
19. III. 19	1	4	14	47	30	4
21. III. 19	2	8	11	51	25	3
25. III. 19	0	8	14	46	22	10
28. III. 19	1	7	19	50	16	7

Kurz zusammengefaßt finden wir, daß nach Milzexstirpation eine Zunahme der vom Knochenmark stammenden Elemente, eine Leukocytose eintritt, die mit der Zeit aber einer dauernden Lymphocytose Platz macht. Dieser Befund stimmt mit denjenigen Dubois' überein.

Bevor auf die Betrachtung der Operationsfolgen auf das weiße Blutbild eingegangen wird, seien noch einige Beobachtungen erwähnt, die ich bei der histologischen Untersuchung der Erythrocyten gemacht habe.

Die Milzexstirpation steigert die Tätigkeit des Knochenmarks in der Weise, daß es in seiner Aufgabe, die Erythrocyten zu entkernen, nicht nachkommt. Regelrechte Normoblasten, wie sie in der Literatur beschrieben sind, habe ich nicht gefunden, dagegen Veränderungen an roten Blutkörperchen, die zu einer Einreihung derselben in die Gruppe der Normoblasten berechtigen. So stellte ich die Anwesenheit punktierter Erythrocyten fest. Die Frage, ob die Körner Kernreste darstellen oder dem Protoplasma selbst angehören, ist noch nicht entschieden. In der menschlichen Pathologie haben sie bei der chronischen Bleivergiftung diagnostische Bedeutung. Ferner wurden in den Präparaten Formen vom Howell-Jollyschen Typus gefunden; bei der Romanowsky-Giemsa-Färbung sind diese Kernreste als rote Körner mit lichtem Hof erschienen. Viele rote Blutkörperchen zeigten außerdem eine Mischfärbung mit graubläulichem Ton. Man weiß, daß diese Polychromatophilie eine Eigentümlichkeit früher Entwicklungsstufen der Erythrocyten ist. Es ist daher nicht verwunderlich, diese Eigenschaft bei meinen Versuchen im Verein mit anderen Regenerationserscheinungen anzutreffen. Nach Sahli steht die polychromatophile Färbbarkeit wahrscheinlich in naher Beziehung zur basophilen Körnung. Im normalen Kaninchenblutbild bemerkte ich selten eosinophile Zellen; nach der Entmilzung traten sie reichlicher auf. Auch darin erblicke ich eine Reizung des Knochenmarks infolge Milzexstirpation.

Ich komme zum relativen Blutbilde. In der Deutung des Befundes ist besonders Vorsicht geboten, wissen wir doch, mit welch wandelbaren Verhältnissen wir es bei den weißen Blutkörperchen zu tun haben. Es sei nochmals kurz gesagt, daß nach der Entmilzung zuerst eine Leukocytose eintritt, die allmählich einer dauernden Lymphocytose Platz macht.

Zur Erklärung betrachten wir getrennt den lymphatischen und den myeloischen Apparat; sie stellen ja auch zwei getrennte Systeme dar, die getrennt erkranken können. Es ist bekannt, daß die Milz normalerweise an der Produktion von Lymphocyten beteiligt ist. Durch die Milzexstirpation wird das lymphatische System gestört, was sich sofort in einer geschwächten Lymphopoese manifestiert. Die Regeneration läßt aber nicht lange auf sich warten, es tritt sogar eine anhaltende Überproduktion von Lymphocyten (Lymphocytose) ein, die wir als einen kompensatorischen Vorgang anzusehen haben. So weit die Wirkung auf den lymphatischen Apparat.

Was die Wirkung auf den myeloischen Apparat anbelangt, so haben wir früher schon gesehen, daß das Knochenmark seiner Aufgabe, die Erythrocyten zu entkernen, nicht vollständig nachkommt. Die Entmilzung, so schließen wir zum voraus, wird demnach auf die Bildungsstätten der weißen Knochenmarkselemente eine ähnliche Wirkung ausüben müssen. Die Leukocyten steigen kurz nach der Operation an, gehen aber dann im Verhältnis wie die Lymphocyten wieder zunehmen, zurück; doch die jüngeren Formen der Leukocyten bleiben in größerer Zahl wie im normalen Bild, ebenso halten sich deren unreife Vorstufen, die Myelocyten. Als Anhaltspunkt für das Maß der Inanspruchnahme des Knochenmarks dient uns das neutrophile Blutbild Arneths. In der Tat treten da mehr jüngere Formen im Blute auf, als sie normalerweise vorzukommen pflegen. Einkernige Formen (links auf der Tabelle) stellen junge Individuen dar, mehrkernige (rechts auf der Tabelle) dagegen ältere. Das Protokoll ergibt nun mit aller Deutlichkeit, daß durch die Entmilzung eine beträchtliche Verschiebung nach links, wie das Arneth ausdrückt, eintritt; d. h. es zirkulieren in bezug auf den Kern weniger polymorphkernige Neutrophile. Die Beobachtungen berechtigen zu dem Schluß, genau wie Dubois behauptet, daß infolge der Entmilzung eine Zeit lang eine größere Leistungsfähigkeit des Knochenmarks vorhanden ist.

IV. Das relative Blutbild des milzlosen Tieres unter Einwirkung von Sauerstoffmangel.

Ohne etwas präjudizieren zu wollen, kann man durch die vorausgegangenen Versuche feststellen, daß Schilddrüse und Milz sich in bezug auf das relative Blutbild verschieden verhalten. Die folgenden Versuche sollen nun zeigen, ob man imstande ist, aus den Resultaten weitere Schlüsse zu ziehen, speziell ob zwischen Schilddrüse und Milz unter Einwirkung eines täglich mehrstündigen Sauerstoffmangels ein gegensätzliches Verhalten besteht.

Ein Blick auf Tabelle XIV zeigt uns nach der Operation ein auffallendes Steigen der Knochenmarkselemente. Wir haben eine dauernde Leukocytose mit viel jungen weißen Blutelementen. Diese Tatsache tritt auch beim ersten Versuchstier in Tabelle XII deutlich in Erscheinung. Der Anstieg nimmt beim ersten Tier in der Folge unter Einwirkung des

Tabelle XII.

Erstes Milztier.

	Datum	Lymphocyten	Polymorphk. Leukocyten	Übergangsformen	Gr. Mononucleäre	Basophile
	19. II. 19	41,1	49,1	5,0	3,0	1,8
	Milzexstirpation: 25. II. 19.					
nach O_2-Mangel	1. III. 19	28,2	65,3	3,7	1,3	2,5
	5. III. 19	27,7	65,0	4,5	1,6	1,8
	8. III. 19	24,6	68,0	2,8	2,0	3,2
	12. III. 19	26,1	65,2	4,0	2,8	2,9
	19. III. 19	25,4	66,3	3,7	1,8	3,8
	22. III. 19	25,3	67,2	3,7	1,8	1,0
	26. III. 19	23,1	69,9	2,0	1,4	3,6

Tabelle XIII.

Erstes Milztier. (Blutbild nach Arneth.)

	Datum	Myelocyten	Form mit wenig eingebuchtetem Kern	Form mit tief eingebuchtetem Kern	2 kernig	3 kernig	4- bis mehrkernig
	19. II. 19	0	2	8	45	39	6
	Milzexstirpation: 25. II. 19.						
nach O_2-Mangel	1. III. 19	0	10	8	56	24	2
	5. III. 19	1	6	13	59	18	3
	8. III. 19	5	7	7	55	22	4
	12. III. 19	2	4	10	61	18	5
	19. III. 19	1	8	6	52	24	9
	22. III. 19	2	10	12	55	15	6
	26. III. 19	1	9	16	59	10	5

Tabelle XIV.

Zweites Tier.

Datum	Lymphocyten	Polymorphk. Leukocyten	Übergangsformen	Gr. Mononucleäre	Basophile
10. III. 19	39,3	52,4	3,2	1,5	3,6
Milzexstirpation: 11. III. 19.					
19. III. 19	21,1	69,7	4,9	1,9	2,4
22. III. 19	21,5	70,2	4,5	2,5	1,3
26. III. 19	23,0	66,8	3,1	3,4	2,7
29. III. 19	23,9	67,8	2,2	3,1	3,0

Sauerstoffmangels ein wenig zu, beim zweiten Tier hält er sich auf derselben Höhe. Jedenfalls ist das verschiedene Verhalten gegenüber dem milzlosen Kontrolltier (ohne Sauerstoffmangel) in die Augen springend. Hier Anhalten oder Weiterbestehen der anfänglichen Leukocytose, dort Sturz der anfänglichen Leukocytose bis zur ausgesprochenen, dauernden Leukopenie; d. h. die Leukocytose macht dort einer Lymphocytose Platz.

Tabelle XV.

Zweites Milztier. (Blutbild nach Arneth.)

Datum	Myelocyten	Form mit wenig eingebuchtetem Kern	Form mit tief eingebuchtetem Kern	2 kernig	3 kernig	4- bis mehrkernig
10. III. 19	0	3	8	42	34	34
Milzexstirpation: 11. III. 19.						
19. III. 19	2	10	16	53	18	1
22. III. 19	3	11	18	48	11	9
26. III. 19	0	10	17	54	15	4
29. III. 19	1	9	12	51	20	7

Die Versuche zeigen, daß die anfängliche Reizung des Knochenmarks durch die Entmilzung weiter gesteigert wird durch den Sauerstoffmangel. Den Beweis liefert das neutrophile Blutbild nach Arneth. Die Myelocyten und Formen mit wenig eingebuchtetem Kern sind deutlich vermehrt, indessen die polymorphkernigen Elemente, speziell die dreikernigen, zugunsten der einkernigen abgenommen haben. Es treten im Blute also mehr jüngere Formen auf als beim milzlosen Kontrolltier, und die Verschiebung des Arnethschen Blutbildes nach links ist auch deutlicher ausgeprägt. Es unterliegt daher keinem Zweifel, daß eine gesteigerte Knochenmarkstätigkeit vorhanden ist; im Arnethschen neutrophilen Blutbilde besitzen wir ein Kriterium für die Inanspruchnahme derselben.

Zur Deutung des Befundes beim milzlosen Kontrolltiere habe ich das lymphatische und das myeloische System herangezogen. Notwendigerweise muß das auch hier geschehen.

Durch die Entmilzung wird das lymphatische System gestört, und es tritt eine geschwächte Lymphopoese, eine Lymphopenie mit Leukocytose auf. Von dieser Störung würde sich das lymphatische System glänzend wieder erholen, wenn nicht sogleich zum ersten Reiz der Entmilzung der zweite Reiz des Sauerstoffmangels summierend auf die Knochenmarkselemente einwirken würde. Dadurch bleibt natürlich die Lymphopoese dauernd geschwächt. Ich möchte aber hiermit nicht die Alleinrichtigkeit meiner Erklärung beanspruchen, sicherlich sind die Ergebnisse der Untersuchungen noch anderer Deutungen möglich.

Zusammenfassung.

Die von mir gefundenen Tatsachen stützen die früheren Schlußfolgerungen der Arbeiten Streuli und Danoff. Speziell bestätigen und ergänzen sie die Resultate von Dubois, an dessen Arbeit ich angeknüpft habe. Meine Beobachtungen am weißen Blutbilde gestatten den Schluß, daß schilddrüsenlose Tiere gegenüber Sauerstoffmangel weniger empfindlich, milzlose

Tiere aber gegenüber Sauerstoffmangel viel empfindlicher sind als normale. Es spricht dies für eine verschiedene Reaktionsweise des lymphatischen und des myeloischen Systems.

In Kürze zusammengefaßt lauten die Ergebnisse meiner Arbeit:

1. Der täglich mehrere Stunden andauernde physiologische Sauerstoffmangel äußert sich im relativen Blutbilde der Normaltiere in einer Lymphocytose.

2. Schilddrüsenlose Tiere zeigen unter Beeinflussung von Sauerstoffmangel ebenfalls eine Lymphocytose.

3. Die Milzexstirpation ruft eine Leukocytose hervor, die aber allmählich einer dauernden Lymphocytose Platz macht.

4. Bei unter Sauerstoffmangel stehenden, entmilzten Tieren tritt eine dauernde Leukocytose mit einer dauernden Vermehrung der Knochenmarkselemente ein.

Literatur.

Asher und Vogel, diese Zeitschr. **43**, 386.
Asher und Sollberger, diese Zeitschr. **55**, 13.
Asher und Ebnöther, diese Zeitschr. **72**, 416.
Asher und Dubois, diese Zeitschr. **82**, 141.
Asher und Streuli, diese Zeitschr. **87**, 359.
Asher und Danoff, diese Zeitschr. **93**, 44.
Hirschfeld und Klemperer, Berl. klin. Wochenschr. Heft 22, 1914.
Mansfeld und Müller, Arch. f. d. ges. Physiol. **143**, 157, 1913.
Mansfeld, Arch. f. d. ges. Physiol. **152**, 32, 1913.
Ollino, Acc. Med. Genova Feber **1912**.
Neuschloß, Arch. f. d. ges. Physiol. **161**, 492, 1915.
Regling und Klunker, Deutsche militärärztl. Zeitschr. Heft 13, 1911.
Bayer, Mitt. a. d. Grenzgeb. **21**, 338; **22**, 11 u. 532.
Pugliese, Arch. per la scienze medic. **24**.
Pugliese, Arch. italian. d. biologie **33**, 1900.
Decastelle, Deutsche med. Wochenschr. **1914**.
Nägeli, Blutkrankheiten.
Kocher, Nach einer klin. Vorlesung.
Sahli, Klin. Untersuchungsmethoden **1914**.
Schindler, Zeitschr. f. klin. Med. **54**, 1904.
Arneth, Fischer, Jena **1904**.
Lepehne, Beitrag zur pathol. Anatomie **64**, 1917.

Weiteres zur Theorie der Adsorption der Elektrolyte: Die Adsorption der organischen Farbstoffe.[1])

Von

Leonor Michaelis und Peter Rona.

(Eingegangen am 14. Juni 1919.)

I. Einleitung.

Bei unseren Untersuchungen der Adsorption der Neutralsalze durch Kohle stellten wir fest, daß das Anion und Kation aller untersuchten Salze stets in äquivalenten Mengen adsorbiert werden, soweit die Fehlergrenzen der chemischen Analyse dies überhaupt zu behaupten gestatten. Niemals trat eine meßbare hydrolytische Spaltung auf, derart, daß aus einem Neutralsalz z. B. nur die Säure adsorbiert wurde und die Base zurückblieb oder umgekehrt. In den wenigen Fällen, wo eine ganz geringfügige Abweichung der Äquivalenz beobachtet wurde, mußte es als wahrscheinlich hingestellt werden, daß die Ursache nicht in der Adsorption, sondern in einer sekundären, mehr zufälligen chemischen Begleitreaktion bestand, die im Wesen gar nichts mit der Adsorption zu tun hat. Diese Beobachtung steht nun im Widerspruch mit manchen Angaben der Literatur, und es erschien uns wichtig genug, sie noch eingehender zu prüfen.

Die eingehende Berücksichtigung aller in der Literatur beschriebenen Fälle, bei denen eine Hydrolyse durch die Adsorption beobachtet wurde, behalten wir uns für eine spätere Mitteilung vor, und wir wollen nur unseren eigenen Versuchsplan berichten. Es sei nur erwähnt, daß die organischen Farb-

---

[1]) Die Mittel zu dieser Arbeit stammen zum Teil aus dem von den Farbwerken Leopold Cassella & Co. dem einen von uns zur Verfügung gestellten Fond. Vgl. diese Zeitschr. 79, 1.

stoffe mit Hinsicht auf die zu lösende Frage schon von H. Freundlich und seinen Schülern herangezogen worden sind. Die genauere Berücksichtigung auch dieser Arbeiten wird später im Zusammenhang geschehen.

Wenn überhaupt, so ist eine hydrolytische Spaltung durch die Adsorption bei solchen Salzen zu erwarten, bei denen das Anion viel stärker adsorbierbar ist als das Kation oder umgekehrt. Für solche Salze sind nun die organischen Farbstoffe ausgezeichnete Repräsentanten. Die hohe Adsorbierbarkeit ist ja eine Haupteigenschaft eines Farbstoffes. Wenn wir finden, daß Methylenblau (das Chlorid der Methylenblaubase) stark adsorbiert wird, so kann das ja nur an der hohen Adsorbierbarkeit des Methylenblau-Kations liegen, denn die gewöhnlichen Chloride sind sehr schlecht adsorbierbar, und ebenso kann die gute Adsorbierbarkeit des eosinsauren Kalium nur an der hohen Adsorbierbarkeit des Eosinsäure-Anions liegen.

II. Die angewendeten Farbstoffe.

Die Farbstoffe stammen sämtlich von Leopold Cassella & Co. in Frankfurt a. M. und wurden uns von Herrn Dr. L. Benda daselbst in analysenreinem Zustande überlassen. Die Ammoniumsalze der Farbsäuren hat er auf unsere Veranlassung dargestellt, ebenso das Jodid des Trypoflavin. Wir sind Herrn Dr. Benda für seine Mühe und seine Ratschläge in der Auswahl der Farbstoffe zu großem Dank verpflichtet.

Von basischen Farbstoffen benutzten wir die Chloride von Methylenblau, p-Fuchsin, Diaminoacridin, Diaminomethylacridinium (Trypoflavin)[1]), das letztere auch als Jodid; von sauren Farbstoffen benutzten wir Eosinkalium, Eosinammonium und pikrinsaures Ammonium. Das letztere stellten wir nicht trocken dar, sondern durch Vermischen einer Pikrinsäurelösung, deren Gehalt durch Titrieren gegen NaOH mit Phenolphthalein als Indikator festgestellt war, mit der berechneten Menge Ammoniak. Ferner verwendeten wir noch das Ammonsalz des Diaminoechtrots (Benzidin - Disazo - Salizylsäure - 2 - Amino - 8 - Naphthol-6-Sulfosäure), einen substantiven Baumwollfarbstoff. Bei den basischen Farbstoffen kam es für unsere Zwecke beson-

---

[1]) L. Benda Ber. **45**, 1787, 1912.

ders darauf an, daß sie nicht mit Alkalichloriden und mit Zinkchlorid verunreinigt waren. Eine von Herrn Dr. Benda ausgeführte Aschenanalyse beim Abrauchen der Farbstoffe mit H_2SO_4 und Glühen ergab

a) für Methylenblauchlorid:

1,0816 g Substanz geben 0,0018 g Rückstand, also nicht ganz 0,17 %.

Wird dieser Rückstand ganz als Natriumsulfat betrachtet, der seinerseits ganz aus einer Verunreinigung des Farbstoffs mit NaCl stammt, so würde das rund einem Gehalt von 0,1 % des absoluten Gewichts oder 0,5 bis 0,6 % der molaren Menge an NaCl entsprechen.

b) für Trypoflavinchlorid:

0,4438 g Substanz ergeben 0,0002 g Asche = 0,04 % NaCl.

0,1624 g Substanz geben nach Carius 0,0858 g AgCl.

$C_{14}H_{14}N_3Cl$ ber.: Cl 13,66 %; gef. 13,07 %.

Die Auswahl der Farbstoffe wurde derart getroffen, daß in dieser Arbeit zunächst nur Farbstoffe von normalem Elekrolytcharakter, also von völliger Ionendispersität genommen wurden. Durch einige Messungen der Cl'-Konzentration mit der Kalomelkonzentrationskette, die wir in anderem Zusammenhange zu veröffentlichen gedenken, überzeugten wir uns von der fast totalen Dissoziation unserer basischen Farbstoffe. Für die sauren Farbstoffe, Pikrinsäure und Eosin, war dieser Nachweis nicht erforderlich. Eine Ausnahme macht nur das schon kolloidale Diaminechtrot. Wir betonen ausdrücklich, daß die in dieser Arbeit gewonnenen Resultate nicht ohne weiteres auf kolloidale adsorbierbare Stoffe und adsorbierbare Suspensionen übertragen werden dürfen.

III. Versuche mit Kohle.

a) Charakterisierung der Kohle.

Als Kohle wurde das Präparat „Carbo medicinalis Merck, hochwertig, biologisch geprüft (Carbo animalis — Tierblutkohle)“ angewendet. Es ist die reinste Kohle, die wir erhalten konnten. Sie wurde auch schon in unserer früheren Arbeit angewendet. Da für die vorliegende Frage die Beschaffenheit der Kohle besonders wichtig ist, wollen wir die Eigenschaften des Präparats noch näher charakterisieren. 15 g der Kohle mit 100 ccm

Wasser $^{1}/_{2}$ Std. geschüttelt gab ein Filtrat, welches einen kaum bemerkbaren Hauch einer Chlorreaktion gab. 30 ccm des Filtrats mit Schwefelsäure abgeraucht, gaben einen Rückstand von 4 mg Asche. Das Filtrat gibt mit oxalsaurem Ammonium keine sichere Calciumfällung, aber 5 g Kohle mit 50 ccm Normal-HCl ausgelaugt, geben im Filtrat deutliche Kalkreaktion. 1,0058 g Kohle hinterlassen nach dem Glühen 0,0708 g weiße Asche, wovon 0,0575 g weder in heißer Salzsäure noch in heißer Kalilauge löslich sind (im wesentlichen wohl Kalksilicat), 0,0133 g der Asche sind in Salzsäure löslich. Hiervon sind 0,0027 g CaO; Eisen ist nicht vorhanden. Die Kohle mit gewöhnlichem (also sauer reagierendem) destilliertem Wasser geschüttelt gibt ein Filtrat, welches mit Lackmuslösung eine blauviolette, fast blaue Färbung gibt, eher noch etwas blauer als theoretisch reines Wasser. Die Änderung der sauren Reaktion des destillierten Wassers durch die Kohle ist im wesentlichen durch die Adsorption der Kohlensäure zu erklären. Ob außerdem eine Abgabe von Alkali stattfindet, wurde durch eine Bestimmung der Wasserstoffzahl geprüft. Diese wurde elektrometrisch vermittels einer Elektrode mit ständiger Wasserstoffdurchleitung vom Typus der Bjerrum-Sörensenschen Elektrode ausgeführt.

5 g Kohle wurden mit 50 ccm destilliertem Wasser geschüttelt und filtriert. Das Filtrat wurde zur Erhöhung der Leitfähigkeit mit ein wenig NaCl versetzt. Nach wiederholter Wasserstoffdurchleitung stellte sich mit dieser Flüssigkeit ein einigermaßen konstantes Potential von 783 Millivolt gegen die Decinormal-Kalomel-Elektrode bei 21° ein. Daraus ergibt sich $p_H = 7{,}65$, und die Lösung ist somit als soeben alkalisch zu bezeichnen. Bei einer anderen Probe der Kohle wurde ein ganz entsprechendes Filtrat ohne jeden Zusatz gemessen, und es stellte sich mit einer Genauigkeitsbreite von wenigen Millivolt bei 18° C ein Potential von 814 Millivolt ein, also $p_H = 8{,}27$, bei einer dritten Probe $p_H = 8{,}02$[1]. Die Kohle gibt somit beim Schütteln an destilliertes Wasser ein Spürchen Alkali ab. Trotz dieser Mängel blieben wir bei dieser Kohlensorte, denn andere Kohlenproben waren viel schlechter, und eine von uns

[1]) Gewöhnliches destill. Wasser, in Jenaer Glasgefäß ausgekocht, ergab bei gleicher Methodik $p_H = 6{,}5$.

aus Rohrzucker hergestellte reine Kohle ließ sich mechanisch nicht genügend zerkleinern, um genügend Adsorption hervorzurufen.

Der Wassergehalt der Kohle betrug an 3 verschiedenen Tagen 26,7, 26,7, 27,0 % (Trocknung bei 120°).

b) Kohle und basische Farbstoffe.

Die Versuche wurden so eingerichtet, daß der Farbstoffgehalt der Lösungen durch die Adsorption völlig erschöpft wurde. In den Fällen, wo noch ein Spürchen Farbstoff ins Filtrat ging, ist im Protokoll vermerkt: Im Filtrat wiedergefundene Menge der Farbbase 0,1 % oder dgl. Das Chlor im Filtrat wurde nach Volhard bestimmt. Tabelle I zeigt das Resultat.

Tabelle I.

Basische Farbstoffe und Kohle.

Nr.	Farbstoff	molare Konzentration der Farblösung	Kohle g pro 100 ccm	Im Filtrat wiedergefundene Menge des Anion	des Farbstoffkation
				in Prozenten der ursprünglichen Menge	
1	Methylenblauchlorid	0,00500	1,0	5,5 %	<1 %
2	„	0,00485	10,0	8 %	0 %
3	„	0,0250	8,0	22 %	0 %
4	„	0,0250	10,0	17 %	<0,1 %
5	„	0,00250	10,0	35 %	0 %
6	„	0,0250	12,0	29 %	<0,01 %
7	„	0,00250	0,5	15 %	<0,01 %
8	p-Fuchsinchlorid	0,00400	6,67	32,5 %	0 %
9	„	0,00400	4,0	25 %	0 %
10	Diaminoacridinchlorid	0,0200	10,0	17 %	0 %
11	Diaminomethylacridiniumchlorid (Trypoflavin)	0,0452	4,2	28,2 %	0 %
12	„	0,0200	15,0	12,7 %	0 %
13	„	0,0200	5,0	11 %	0 %

Es zeigt sich somit, daß bei allen basischen Farbstoffen mindestens $^{2}/_{3}$ der theoretisch möglichen Menge des Anions zu-

gleich mit der Farbbase adsorbiert wird, meist sogar noch mehr, bis zu 95%.

Es fragt sich nun zunächst, ob das nicht adsorbierte Chlor in Form von freier HCl vorhanden ist. Der Nachweis derselben wäre außerordentlich leicht. Beispielsweise würde in Versuch 6 die Konzentration der freien HCl im Filtrat 0,0073 n sein, wenn das Chlor in Form von HCl in der Lösung wäre. Dies würde ergeben $p_H = 2,14$. Das Filtrat müßte daher gegen Methylorange stark sauer reagieren. In Wirklichkeit zeigt Methylorange in den Filtraten keine Spur Rötung. Eine elektrometrische Messung von p_H mit fortgesetzter Wasserstoffdurchströmung ergab in diesem Fall, in größtem Widerspruch zu der Annahme freier HCl, $p_H = 7,25$.

Das Chlor mußte also an irgend eine Base gebunden sein. Als solche ließ sich nun denn auch leicht Ca nachweisen. Wir hatten schon oben gezeigt, daß unsere Kohle Ca enthält. Mit reinem Wasser geschüttelt gibt sie keine merklichen Mengen Ca ab, wohl aber, wenn man sie mit Lösungen von basischen Farbstoffen schüttelt. Das Farbstoffkation verdrängt hier offenbar das sonst sehr festhaftende Ca-Ion, welches in Form irgend eines unlöslichen Kalksalzes der Kohle beigemengt ist. Zu einem ähnlichen Ergebnis kamen schon Freundlich und Neumann[1]) bei Versuchen an Kohle vor allem mit Neufuchsin.

Erörtern wir nun diese Befunde. Von vornherein sind bei der Adsorption eines Salzes drei Möglichkeiten vorhanden, die auch gleichzeitig nebeneinander bestehen können. Wir wollen sie bezeichnen als: äquivalente Adsorption, hydrolytische Adsorption und Austauschadsorption. Unter äquivalenter Adsorption verstehen wir diejenige Form der Adsorption, bei der Anion und Kation des Salzes in äquivalenter Menge adsorbiert wird. Hydrolytische Adsorption ist diejenige Form der Adsorption, bei der die Base des Salzes adsorbiert wird, wobei das Anion in Form freier Säure in der Lösung bleibt (bzw. umgekehrt). Austausch-Adsorption ist diejenige Form der Adsorption, bei der zwar auch das Anion (bzw. Kation) in der Lösung bleibt, aber nicht als freie Säure (bzw. Base),

---

[1]) H. Freundlich und W. Neumann, Zeitschr. f. physik. Chem. 67, 538, 1909.

sondern gebunden an ein Kation, welches im Austausch mit der adsorbierten Base aus dem Adsorbens in die Lösung geht.

Zu diesen drei Formen der Adsorptionen der Elektrolyte, kommt nun noch eine vierte, die sich niemals analytisch nachweisen läßt, aber doch zur Erklärung der Änderung der elektrischen Ladung angenommen werden muß, nämlich die überschüssige Adsorption eines Anions. Durch die äquivalente Adsorption kann nämlich niemals eine Änderung der Ladung des Adsorbens zustandekommen, weil ja gleiche Menge positiver und negativer Elektrizität aufgenommen werden; hydrolytische Dissoziation kommt nicht vor, und die Austauschadsorption ist in vielen Fällen nicht denkbar, in denen doch zweifellos eine Änderung der Ladung eintritt; z. B. bei dem Einfluß der Salze auf die Ladung reiner Kohle. Diese Ladungsänderungen können nur dadurch zustande kommen, daß von dem positiven Ion eine sehr kleine Menge mehr adsorbiert als von dem Kation. Eine Trennung der Ionen kann aber niemals analytisch nachweisbare Grade erreichen, sondern äußert sich nur in Änderungen des elektrischen Potentials. Diese Form der Adsorption wollen wir die „Aufladungsadsorption“ nennen. Ihr Nachweis gehört nicht in unsere Arbeit, die sich analytischer Methoden zum Nachweis der Adsorption bedient, sondern in das Gebiet der Flockungen der kolloidalen Lösungen, der elektr. Endosmose und Katophorese von suspendierten Teilchen unter dem Einfluß der Elektrolyte.

Diese „Aufladungsadsorption“ muß überall dann eintreten, wenn ein Elektrolyt der Adsorption unterliegt, dessen Anion und Kation verschieden adsorbierbar ist, d. h. im allgemeinen bei jeder Adsorption eines Elektrolyten. Ihre Theorie ist von Freundlich und von dem einen von uns angebahnt worden. Sie ist es, die zur Erklärung aller Flockungserscheinungen der Kolloide herangezogen werden muß.

Fragen wir nun, wie setzt sich prozentisch die gesamte Adsorption der basischen Farbstoffe an Kohle aus diesen drei Arten der Adsorption zusammen? Die hydrolytische Adsorption ist in allen Fällen = 0, die äquivalente Adsorption schwankt zwischen 70 und 95 % der Gesamtadsorption, und die Austauschadsorption schwankt zwischen 30 und 5 % der Gesamtadsorption. Die Austauschadsorption kommt aber nicht durch die Kohle selbst zustande, sondern durch die ihr anhaftenden Kalksalze. Eine Austauschadsorption an reiner Kohle ist ja gar nicht denkbar, sie ist nur an Adsorbentien wie kieselsaurer Kalk sinngemäß möglich. Berücksichtigen wir dies, so können wir die gestellte Frage nunmehr besser folgendermaßen beantworten.

Die Adsorption eines basischen Farbstoffes durch Kohle ist in ihrem ganzen analytisch nachweisbaren

Umfange eine äquivalente Adsorption. Eine hydrolytische Adsorption ist durch unsere Versuche widerlegt, eine Austauschadsorption an reiner Kohle ist überhaupt nicht denkbar.

c) Kohle und saure Farbstoffe.

Die Versuche wurden ähnlich wie bei den basischen Farbstoffen angestellt. Es wurden die Ammonsalze der Farbsäuren benutzt, ihr Farbstoffgehalt durch die Kohle erschöpft und der Ammoniakgehalt im Filtrat bestimmt, indem er mit überschüssiger Kalilauge in einem Mikrokjeldal-Destillationsapparat in der Anordnung von Bang in eine Vorlage von 5 bis 10 ccm 0,01 n HCl überdestilliert und jodometrisch bestimmt wurde. Tabelle II zeigt die Resultate.

Tabelle II.

Adsorption saurer Farbstoffe durch Kohle.

Nr.	Farbstoff	Konzentration Mol/Liter	Kohle g pro 100 ccm	Adsorption d. Farbstoff-Anion	Adsorption des Kation	
14	Eosinammonium	0,0298	10,0	99 %	67 %	
15	„	0,0298	11,1	99,5 %	90,8 %	
16	„	0,0298	13,3	ca. 98 %	84,4 %	
17	„	0,00298	5,0	99 %	53 %	
18	„	0,00298	10,0	100 %	44 %	
19	„	0,0298	10,0	99,95 %	85,6 %	
20	Diaminoechtrot-ammonium	0,0172	10,0	99,5 %	71 %	
21	„	0,00345	20,0	100 %	27 %	
22	„	0,00172	10,0	99,5 %	56 %	
23	„	0,00172	16,7	100 %	53,5 %	
24	„	0,00172	10,0	100 %	62 %	
25	Pikrinsaures Ammon	0,00500	10,0	100 %	45 %	
26	„	0,0050	10,0	100 %	58 %	
27	„	0,0050	10,0	100 %	63,6 %	(gekocht)
28	„	0,0100	10,0	100 %	73 %	
29	„	0,0100	5,0	100 %	72 %	
30	„	0,0095	10,0	100 %	73 %	m. Überschuß von Pikrinsäure[1]
31	„	0,0075	10,0	100 %	77 %	m. Überschuß von Pikrinsäure[1]

[1]) In 30 = 0,0021 n freie Pikrinsäure.
In 31 = 0,0105 n „ „

Wir legen uns nunmehr wiederum die Frage vor, in welchem Grade hierbei die von uns oben unterschiedenen drei Formen der Adsorption an der Gesamtadsorption beteiligt sind. Aus dem Betrage der adsorbierten Ammoniakmenge finden wir den Anteil der äquivalenten Adsorption in der Regel um 70%, manchmal weniger, manchmal mehr. Im Durchschnitt dürfte der Betrag der Äquivalentadsorption etwas kleiner sein als bei den basischen Farbstoffen.

Wir hatten in der früheren Arbeit bei Chlorammonium eine reine Äquivalentadsorption beobachtet. Es erschien uns nun notwendig, uns durch einen Kontrollversuch davon zu überzeugen, daß der Unterschied bei der Adsorption der farbsauren Ammonsalze wie $ClNH_4$ unter möglichst gleichen Versuchsbedingungen wirklich besteht. Wir benutzten in der früheren Arbeit für die Adsorption 0,1 bis 0,2 normale Lösungen von $ClNH_4$ und stellten jetzt den Versuch, mehr den Farblösungen entsprechend, mit einer 0,01 normalen Lösung von $ClNH_4$ an. 100 ccm hiervon wurden mit 15 g Kohle geschüttelt. Es fand sich, daß vom NH_3 8,5%, vom Cl 8,0% adsorbiert waren[1]). Wir finden hier 1., daß $ClNH_4$ ganz bedeutend weniger adsorbiert wird, als die farbsauren Ammonsalze, 2., daß bei $ClNH_4$ innerhalb der Versuchsfehler Äquivalenz der Adsorption beider Ionen besteht. Die Erklärung hierfür auf Grund der weiter unten entwickelten Grundsätze ist folgende. NH_4Cl besteht aus zwei sehr schlecht adsorbierbaren Ionen. Sie verdrängen daher keines der Ionen, mit denen die Kohle verunreinigt ist. Ein farbsaures Ammonsalz besteht aus einem schlecht adsorbierbaren Kation (NH_4) und dem gut adsorbierbaren Farb-Anion. Es ist daher viel eher möglich, daß das Farb-Anion gegen ein Anion der verunreinigten Kohlenoberfläche ausgetauscht wird, als daß das NH_4 gegen ein Kation der Kohle ausgetauscht wird.

Der Betrag der hydrolytischen Adsorption mußte wiederum durch eine Messung der $[H^\cdot]$ im Filtrat bestimmt werden.

---

[1]) Berücksichtigen wir den Wassergehalt der angewendeten Kohle, welcher gewissermaßen eine Verdünnung der angewendeten Lösung bewirkt, so ist die Adsorption noch um 4% geringer, also statt 8,5% nur 4,5%. Von der Berechtigung dieser Umrechnung gibt folgender Versuch Aufschluß. Aus 100 ccm 0,100 mol. Lösung von KCl werden durch 15 g nicht getrockneter Kohle 8,5% scheinbar, also umgerechnet 4,5% adsorbiert. Aus der gleichen Lösung werden durch 15 g feucht abgewogener, nachträglich getrockneter Kohle 4,3% adsorbiert, also in praktisch völliger Übereinstimmung mit der Berechnung. Unsere Zahlen der Arbeit in dieser Zeitschr. **94**, 240 beziehen sich alle auf die ungetrocknete Kohle von 27% Wassergehalt. Es ergibt sich daraus, daß eine Adsorption der Sulfate des K, Na und NH_4 analytisch nicht nachweisbar ist.

20 ccm 0,0167 n-Lösung von eosinsaurem Ammonium wurden mit 2 g Kohle geschüttelt, das Filtrat, das ein Spürchen Eosin und Kohle enthielt, nach Zusatz von ein wenig NaCl bei strömendem Wasserstoff gemessen. Es ergab sich $p_H = 8,34$, also nahezu derselbe Wert, wie beim Schütteln unseres Kohlepräparates mit destilliertem Wasser (7,6 bis 8,3). Es kann uns nun der Einwand gemacht werden, daß kleine Mengen NH_3 die $[H^{\cdot}]$ der Lösung allzu wenig ändern, zumal wenn daneben Ammoniaksalze in Lösung sind (wir werden nämlich sogleich sehen, daß das letztere bei unseren Lösungen der Fall ist). Wir wiederholten deshalb diesen Versuch mit Eosinkalium, weil die eventuell abgespaltene KOH sich auch in geringsten Mengen elektrometrisch nachweisen läßt. Eine 0,0200 molare Lösung von Eosinkalium in ausgekochtem Wasser ergab bei 20,5° $p_H = 7,11$. Es ist also eine neutrale Lösung. Diese Farblösung mit $^1/_{10}$ ihres Gewichts Kohle geschüttelt ergibt ein Filtrat, das bei 20,5° $p_H = 8,59$ zeigt. Wollten wir diese sehr geringe Alkalität auf freie Lauge beziehen, so würde das eine Konzentration von $3,7 \cdot 10^{-6}$ n-Lauge ergeben. Wenn wir aber bedenken, daß die Kohle an reines Wasser ebenfalls schon eine Spur Alkali abgibt und daß diese Menge infolge Verdrängung durch das besser adsorbierbare Eosin vielleicht noch erhöht wird, wenn wir ferner bedenken, daß unsere Messung wahrscheinlich eine etwas höhere Alkalität angibt, als sie dem wirklichen Filtrat entspricht, weil bei der ständigen H_2-Durchströmung beim Messen noch CO_2 ausgetrieben wird, so glauben wir uns genügend berechtigt, den direkt gefundenen Wert $3,7 \cdot 10^{-6}$ n-NaOH auf 0 korrigieren zu dürfen. Würde also schon der unkorrigierte Wert den Anteil der hydrolytischen Adsorption zu ungefähr 0,01% der gesamten Adsorption ergeben, so gestattet diese Korrektur, diesen Wert noch weiter zu verkleinern und somit die hydrolytische Adsorption praktisch gleich 0 zu setzen.

Der Anteil der Austauschadsorption ergibt sich somit gleich der Differenz der Gesamtadsorption und der Äquivalentadsorption. Er beträgt in der Regel um 30% der Gesamtadsorption. Das NH_3 des Filtrats findet sich überwiegend als Chlorid. Obwohl unsere Kohle an reines Wasser kaum bestimmbare Mengen von Cl abgibt, gibt sie im Austausch mit

Eosin sehr deutliche Mengen Cl ab. Die Austauschadsorption ist also auch hier, wie bei den basischen Farbstoffen nicht auf die Kohle selbst zu beziehen, und es ergibt sich als Schlußresultat dasselbe wie bei den basischen Farbstoffen: Es gibt nur eine Form der Adsorption von sauren Farbstoffen durch reine Kohle und zwar die Äquivalentadsorption. Hieraus können wir für die Adsorption der Farbsalze durch Kohle folgenden allgemeinen Schluß ziehen. Reine Kohle adsorbiert organische Farbsalze aus ihren reinen wäßrigen Lösungen auf alle Fälle immer derart, daß vom Anion und Kation des Salzes immer äquivalente Mengen adsorbiert werden. Eine meßbare hydrolytische Spaltung durch die Adsorption tritt niemals auf.

IV. Versuche mit unlöslichen elektrolytartigen Adsorbentien.

Unter elektrolytartigen Adsorbentien wollen wir diejenigen unlöslichen, pulvrigen Substanzen verstehen, die ihrer chemischen Zusammensetzung nach eine Säure (oder deren Anhydrid) oder eine Base (oder deren Anhydrid) oder ein Salz darstellen. Für die weiteren Betrachtungen wird es von Wichtigkeit sein, zwischen den Säuren und Basen einerseits (z. B. Kieselsäure, Eisenoxyd) und den Salzen andrerseits (z. B. kieselsaure Tonerde, unlösliche basische Ferrisalze und dgl.) zu unterscheiden. Es ist hierbei gleichgültig, ob es sich um ein im chemischen Sinne basisches, neutrales oder saures Salz handelt. Für uns kommt es nur darauf an, daß das Adsorbens außer der Säure noch irgend einen basischen Bestandteil enthält, der im Falle einer Austauschadsorption mit einem zu adsorbierenden Kation in Austausch treten könnte, oder daß es neben einer Base einen sauren Bestandteil enthält, der mit einem Anion in Austausch treten könnte.

a) Theoretische Einleitung.

Es ist noch nicht lange her, daß Freundlich die Ansicht vertrat, daß alle Adsorptionserscheinungen im wesentlichen weitgehend unabhängig seien von der Natur des Adsorbens. Ordnete er die adsorbierbaren Stoffe nach dem Grade ihrer Adsorbierbarkeit für Kohle in eine Reihe, so blieb diese Reihen-

folge, wie er meinte, auch für andere Adsorbentien im wesentlichen die gleiche. Freundlich betrachtete dies jedoch schon selbst nur als eine auffallend häufig zutreffende Regel, nicht als durchgehendes Gesetz. Auch wir zeigten, daß wesentliche Abweichungen von dieser Regel vorkommen. Wir bringen zunächst einige derartige Fälle in Erinnerung. Ordnen wir einige Stoffe nach dem Grade ihrer Adsorbierbarkeit für Kohle, so könnten wir folgende Stufen unterscheiden.

1. Stufe: Methylenblau, Eosin.
2. Stufe: Phenol, Aceton, Essigsäure.
3. Stufe: Traubenzucker.
4. Stufe: HCl, $NaOH$.
5. Stufe: $AlCl_3$, $KCNS$.
6. Stufe: $NaCl$.

Ordnen wir nun diese Substanzen nach ihrer Adsorbierbarkeit durch Kaolin, so ergibt sich: von allen genannten Stoffen ist nur Methylenblau, das aber gut adsorbierbar. Das für die Kohle auf gleicher Stufe stehende Eosin wird von Kaolin nicht in den geringsten Spuren adsorbiert. Die Stoffe der 2. und 3. Stufe werden mit Bestimmtheit auch nicht adsorbiert, und von den Körpern der 4. bis 6. Stufe können wir auf Grund der bisherigen Untersuchungen nur aussagen, daß sie entweder sehr wenig oder, noch wahrscheinlicher, gar nicht adsorbiert werden.

Durch ein Adsorbens wie Eisenoxyd oder Tonerde werden von den Körpern der 1. Stufe nur Eosin, aber nicht Methylenblau adsorbiert, von den Körpern der anderen Stufen gilt dasselbe wie für das Kaolin. D. h. also 1. einsinnig geladene Adsorbentien adsorbieren von den Farbstoffen immer nur oder jedenfalls stark überwiegend die von entgegengesetzter Ladung.

2. Nichtelektrolyte, die von Kohle recht gut adsorbiert werden, sei es oberflächenaktive (Aceton), sei es oberflächenindifferente (Zucker), werden von elektrisch einsinnig geladenen Adsorbentien überhaupt nicht oder nur manchmal in Spuren adsorbiert[1]). Die Freundlichsche Regel trifft also hier nicht zu, wir können ihr vielmehr eine andere Regel entgegenstellen, etwa folgendermaßen:

---

[1]) Wir werden hierüber noch in einer besonderen Arbeit berichten.

Die elektrolytartigen Adsorbentien unterscheiden sich von der elektrisch indifferenten Kohle

1. durch den auffälligen, wenn auch nicht ganz ausnahmslosen Verlust der adsorbierenden Fähigkeit gegenüber gleichsinnig geladenen Ionen, selbst wenn diese auf der höchsten Stufe der Adsorbierbarkeit gegen Kohle stehen.

2. durch den auffälligen, wenn auch nicht immer völligen[1]) Verlust der adsorbierenden Fähigkeit gegenüber (oberflächenaktiven oder -inaktiven) nichtelektrolytischen Stoffen.

Mit diesen Vorkenntnissen betreten wir nun das Gebiet der Adsorption der Farbstoffe durch elektrolytartige Adsorbentien und werden versuchen, die beobachteten Adsorptionen wiederum prozentisch in hydrolytische Adsorption, Äquivalentadsorption und Austauschadsorption zu zerlegen. Diese 3 Begriffe bedürfen aber hier noch einer näheren Besprechung. Zwar ist der Begriff der Äquivalentadsorption auf alle Fälle eindeutig, aber bei der Abgrenzung der beiden anderen Begriffe können Schwierigkeiten entstehen.

Ganz einfach ist die Definition dieser Begriffe, wenn das Adsorbens ein salzartiger Stoff wie kieselsaure Tonerde oder $BaSO_4$ ist. Z. B. würden wir von einer hydrolytischen Adsorption sprechen, wenn $BaSO_4$ vom Methylenchlorid die Methylenblaubase adsorbierte und freie HCl in Lösung ließe, und von einer Austauschadsorption, wenn $BaSO_4$ Methylenblauionen aufnimmt und dafür Ba-Ionen in die Lösung abgäbe.

Besteht aber das Adsorbens nicht aus einem unlöslichen Salz, sondern aus einer unlöslichen Säure (Kieselsäure) oder unlöslichen Base (Tonerde), so fallen diese beiden Formen der Adsorption in eine zusammen, und es ist daher bei solchen Adsorbentien nur zu unterscheiden zwischen Äquivalentadsorption und hydrolytischer Adsorption.

Am einfachsten erwiesen sich die Versuche mit einigen salzartigen Adsorbentien, und wir beginnen daher mit diesen.

b) Versuche mit salzartigen Adsorbentien.

1. Bariumsulfat. Bariumsulfat zeigt weder basischen noch sauren Farbstoffen gegenüber ein merkliches Adsorptionsvermögen.

---

[1]) Wir werden hierüber noch in einer besonderen Arbeit berichten.

2. Talkum. (Magnesiumsilicat). Gegenüber sauren Farbstoffen (Eosinammonium, Eosinkalium) zeigt Talkum ein kaum nachweisbares Adsorptionsvermögen. Nur bei Anwendung äußerst verdünnter, ganz schwach gefärbter Eosinlösungen kann man durch große Mengen Talkum eine kolorimetrisch nachweisbare Menge von Farbstoff entfernen. Basische Farbstoffe adsorbiert es weit besser, aber immerhin so wenig, daß es sich nicht gut für quantitative Versuche eignet. Die erforderlichen Mengen Talk wären etwa das 50fache der Kohle.

3. Kaolin. (Ein im wesentlichen aus Aluminiumsilicat bestehendes Verwitterungsprodukt.) Das benutzte Kaolin gibt, mit Wasser geschüttelt, keine meßbare Menge Cl oder Ca ab.

Das Kaolin erwies sich, wie auch schon in früheren Arbeiten, als das geeignetste Adsorbens für alle basischen Farbstoffe, während es für viele saure Farbstoffe (Eosin, Pikrinsäure) überhaupt kein nachweisliches Adsorptionsvermögen besitzt. Die mehr kolloidalen substantiven Baumwollfarbstoffe (Kongorot, Diaminoechtrot) adsorbiert es besser. Bei basischen Farbstoffen braucht man etwa 15 g Kaolin für den gleichen Effekt, den 1 g Kohle hat. Versuche mit basischen Farbstoffen ergaben folgendes:

Tabelle III.

Kaolin und basische Farbstoffe.

Nr.	Farbstoff	molare Konzentration vorher	. . g Kaolin auf 100 ccm	Konzentration des Filtrats in % der ursprünglichen: an Anion	an Farbstoffkation
				%	%
32	Methylenblauchlorid	0,00500	25,0	91,2	0
33	„	0,00250	20,0	100	0
33	„	0,00250	10,0	95,2	0
34	Diaminoacridinchlorid	0,00200	10,0	100	0
35	Diaminomethylacridiniumchlorid (Trypaflavin)	0,00200	10,0	88,5	0
36	„	0,00200	10,0	98,5	0

Es findet sich also überall eine reine Adsorption des Farbstoff-Kations. Das Anion des Farbstoffs bleibt quantitativ in der Lösung. Die Lösung reagiert aber niemals sauer. Lackmuspapier reagiert gegen die Lösung wie gegen destilliertes Wasser, Methylorange wird niemals gerötet. Das gesamte Chlor findet sich als das Chlorid von Erden und alkalischen Erden. Es findet sich reichlich Ca, im übrigen bot es kein Interesse, eine Analyse dieser Kationen durchzuführen. Wir finden also in diesem Falle den Anteil der Äquivalentadsorption = 0, den Anteil der hydrolytischen Adsorption ebenfalls = 0, und die gesamte Adsorption verläuft quantitativ in der Form der Austauschadsorption.

4. Sogenannte Kieselsäurepräparate. Diese Präparate wählten wir eigentlich in der Absicht, einen Repräsentanten eines unlöslichen, säureartigen Adsorbens zu haben, bei dem eine Austauschadsorption unmöglich sei. Es ist uns jedoch nicht gelungen, ein diesen Ansprüchen genügendes Kieselsäurepräparat zu erhalten. Ein „Kieselsäurehydrat, alkalifrei" von Kahlbaum gab beim Schütteln mit Wasser Chloride ab. Durch energisches Waschen ließ es sich von diesen größtenteils befreien, aber es gab dann noch an HCl große Mengen Kalk ab. Durch wiederholte Behandlung mit Salzsäure ließ sich sein Kalkgehalt nicht erschöpfen. Das Kieselsäurepräparat „Osmosil" (von der „Elektro-Osmose A.-G." in Frankfurt a. M.) erwies sich insofern besser, als es kein Chlor enthielt. Über den Kalkgehalt aber gilt dasselbe, wie bei dem ersten Präparat Die Kieselsäurepräparate enthalten also alle kleine Mengen eines unlöslichen Kalksalzes (Calciumsilicat?) und geben somit die Möglichkeit einer Austauschadsorption. Die Versuche mit Osmosil ergaben folgendes Resultat (s. Tab. IV, S. 72).

Es findet sich also das gesamte Anion des Farbstoffs quantitativ im Filtrat, die Lösung reagierte aber niemals sauer, sondern enthielt Ca. Die Adsorption ist also zu 100 $^0/_0$ ihres Umfanges eine Austauschadsorption. Obwohl das Präparat überwiegend aus ungebundener Kieselsäure bestehen dürfte, beteiligt sich diese selbst an der Adsorption in einer nachweisbaren Menge überhaupt nicht, denn das mußte sich entweder in einer Äquivalentadsorption oder hydrolytischen Adsorption äußern, und das gesamte Adsorptionsvermögen haftet

Tabelle IV.

„Osmosil“ und basische Farbstoffe.

Nr.	Farbstoff	molare Konzentration	.. g Osmosil auf 100 ccm	Konzentration des Filtrats in % der ursprünglichen Anion	Farbstoffkation
37	Methylenblauchlorid	0,00250	20,0	92	0
38	„	0,00250	23,3	100	0
39	„	0,00250	23,3	100	0
40	„	0,00250	15,0	100	0
41	Trypaflavinjodid	0,0050	25,0	100	0,05
42	Diaminoacridinchlorid	0,00200	25,0	115	0,1

an den Beimengungen jenes unlöslichen Kalksalzes, die ihrerseits nur zu einer Austauschadsorption führen.

Wir kommen nunmehr zu denjenigen Präparaten, die saure Farbstoffe adsorbieren. Es ist schwierig, Stoffe von so hohem Adsorptionsvermögen zu finden, daß man quantitative Versuche darüber anstellen kann. Ganz brauchbar erwies sich „Eisenhydroxyd“ von Kahlbaum. Das Präparat verhält sich mutatis mutandis ebenso wie die Kieselsäurepräparate. Zunächst gibt es an Wasser merkliche Mengen Chlor ab, aber auch, wenn es scheinbar ganz chlorfrei gewaschen ist, gibt es, wenn auch nicht

Tabelle V.

Sog. „Eisenhydroxyd“ und saure Farbstoffe.

Nr.	Farbstoff	mol. Konzentration der Farbstoffe	.. g $Fe(OH)_3$ auf 100 ccm	Gehalt des Filtrats an Farbstoffanion	an Kation
				in % der urprüngl. Menge	
43	Eosin-Ammonium	0,00299	66,7	23,1	91,4
44	„	0,00299	33,3	20	70
45	„	0,00299	25,0	26	83
46	„	0,00299	33,3	20	86
47	Diaminechtrot-Ammonium	0,00172	50,0	0	100
48	„	0,00172	100	0	100
49	„	0,00172	50	<2	95
50	„	0,00172	25	0	89,4

an Wasser, so doch im Austausch bei der Adsorption mit basischen Farbstoffen immer wieder Chlor ab. Es ist daher offenbar mit schwerlöslichen basischen Chloriden des Eisens verunreinigt, wie ja auch kaum anders zu erwarten. Es ist bekannt, daß es z. B. unmöglich ist, kolloidales Eisenhydroxyd von Cl gänzlichst zu befreien. Die Versuche ergaben folgendes: siehe Tab. V, S. 72.

Zu dieser Tabelle ist folgendes zu bemerken. Die sauren Farbstoffe werden durch Eisenhydroxyd sehr wenig adsorbiert. Das Eosinammonium kann man selbst in ganz dünnen Lösungen durch Eisenhydroxyd nur schwer erschöpfen; die in den Filtraten zur Bestimmung gelangten Mengen NH_3 betrugen meist nur um 0,2 mg. Der relative Fehler der Bestimmungen kann daher leicht etwa 10 bis 20% betragen. Trotzdem erkennt man mit Sicherheit, daß man die erwartete NH_3-Menge nahezu vollständig im Filtrat findet. Günstiger sind die Versuche mit Diaminechtrot, weil es besser adsorbiert wird. Hier finden wir dann auch in der Tat das NH_3 wirklich vollständig im Filtrat. In Anbetracht der Kleinheit der Zahl glauben wir berechtigt zu sein, die kleinen Fehlbeträge von NH_3 im Filtrat auf Versuchsfehler zurückzuführen. Versuche mit pikrinsaurem Ammonium ließen sich nicht durchführen, weil es sich aus genügend starken Lösungen nicht erschöpfen ließ. NH_3-Bestimmungen aus noch gefärbten Lösungen erwiesen sich als trügerisch, weil die Pikrinsäure beim Destillieren mit Lauge selbst NH_3 entwickelt.

Es findet sich innerhalb der Fehlerquellen das gesamte Ammoniak im Filtrat. Die Lösung reagiert aber niemals alkalisch. Dagegen finden sich immer beträchtliche Mengen Chlor im Filtrat, auch wenn das Eisenpräparat an sich gegen Wasser kein Chlor mehr abgibt. Es handelt sich hier also wiederum um eine reine Austauschadsorption zwischen den basischen Eisensalzen und dem Farbstoff, während das Eisenhydroxyd selbst sich an der Adsorption nicht beteiligt, denn dieses könnte ja nur eine äquivalente oder eine hydrolytische Adsorption bewirken.

c) Versuche mit unlöslichen Säuren und Basen.

1. Unlösliche Säuren. Es ist uns bisher nicht gelungen, eine in Wasser praktisch unlösliche Säure mit einer für quantitative Versuche genügenden Adsorptionsfähigkeit zu finden. Über die Kieselsäure sprachen wir schon oben. Das gesamte Adsorptionsvermögen der Kieselsäurepräparate gegen basische Farbstoffe beruhte auf einer Austauschadsorption mit den beigemengten unlöslichen Kalksalzen, die Kieselsäure selbst

beteiligte sich an der Adsorption garnicht. Wir dürfen daraus den Schluß ziehen, daß reine Kieselsäure für irgendwelche Salze überhaupt kein nennenswertes Adsorptionsvermögen besitzt. Die Auswahl von anderen Oxyden vom Charakter der Säuren oder Säureanhydride, die so schwer im Wasser löslich sind, daß sie dem Wasser keine saure Reaktion erteilen, ist sehr beschränkt. Wir erwähnen einen Versuch, den wir mit Molybdänsäureanhydrid machten. Molybdänsaures Ammoniak wurde bis zum sicheren Verschwinden des Ammoniaks geglüht und das entstandene Oxyd fein zerrieben. Es adsorbierte basische Farbstoffe sehr gut, aber mit Wasser angerührt erteilt es diesem eine selbst gegen Methylorange deutlich saure Reaktion. Die Reaktion zwischen Methylenblauchlorid und Molybdänsäure brauchen wir somit garnicht an die Oberfläche des Oxyds zu verlegen, sondern es findet einfach in der wäßrigen Phase die Fällung des bekanntlich ganz unlöslichen molybdänsauren Methylenblaus statt, und selbst wenn wir uns die Reaktion sich an der Oberfläche des Molybdänoxyds abspielend denken, beruht sie einfach auf der Bildung des ganz unlöslichen Methylenblaumolybdats.

2. Unlösliche Basen. Man sollte meinen, daß man in Form der gewöhnlichen Schwermetalloxyde eine genügende Auswahl der verlangten Substanzen habe, aber es ist ungeheuer schwierig, diese Oxyde in so reiner Form zu beschaffen, wie sie hierfür erforderlich ist. Wir sahen schon oben beim Eisenhydroxyd, daß sein ganzes Adsorptionsvermögen gegen saure Farbstoffe auf einem Umsatz mit den beigemengten basischen Eisensalzen beruht, und wir konnten indirekt zeigen, daß das Eisenhydroxyd selbst sich an der Adsorption garnicht beteiligt. Es lag uns aber doch daran, dies auch direkt zu beweisen durch Anwendung wirklich reiner Metalloxyde. Auf nassem Wege solche herzustellen, ohne eine Verunreinigung mit basischen Salzen befürchten zu müssen, erschien uns nach den Erfahrungen sehr bedenklich. Wir wählten daher einen trockenen Weg und stellten Eisenoxyd und Nickeloxydul her

1. Durch Glühen von Ferrum reductum an der Luft. Das Adsorptionsvermögen des Präparates war so gering, daß es für quantitative Versuche nicht brauchbar war. Es ist nicht zu widerlegen, daß die letzten Reste von Adsorptionsvermögen,

welche dieses Präparat überhaupt noch besitzt, darauf beruhen, daß es sich an der Luft bald mit einer Schicht Carbonat überzieht, und dann hätten wir wieder eine einfache Austauschadsorption.

2. Durch Glühen von Ferrinitrat, und ebenso NiO durch Glühen von $Ni(NO_3)_2$. Die Nitrate der Schwermetallsalze geben die letzten Reste Salpetersäure beim Glühen nur schwer ab. Mäßig lange geglüht zeigen ihre wäßrigen Aufschwemmungen immer noch Reaktionen auf Nitrat und auf Nitrit. Ein solches Präparat adsorbiert saure Farbstoffe sehr gut, aber es handelt

Tabelle VI

Nr.	Farbstoff	Mol	g NiO auf je 100 ccm Lösung	Im Filtrat Farbstoff-anion	Kation
				%	%
51	Diaminechtrotammonium	0,00175	20	0	100

sich wieder um eine gewöhnliche Austauschadsorption, das Kation findet sich quantitativ in Lösung, aber nicht in Form freier Base, sondern als ein neutrales Salz. Glüht man aber dieses Nickeloxyd noch längere Zeit weiter, so büßt es sein Adsorptionsvermögen für saure Farbstoffe so weit ein, daß es für quantitative Versuche unbrauchbar wird, obwohl es seine feinkörnige, leicht pulverisierbare Beschaffenheit beibehält. Auch hier können wir daran denken, daß der winzige Rest des Adsorptionsvermögens auf einem letzten Rest von basischen Nitraten oder einem Überzug mit Carbonat beruhen könnte und wir versuchten deshalb noch ein Metalloxyd, bei dem wir das letztere nicht zu befürchten brauchten, Quecksilberoxyd. Mercurinitrat wurde geglüht, zunächst nur eine Weile länger, als rote Dämpfe aufstiegen. In diesem Zustande adsorbiert es Eosinammonium und Eosinkalium stark. Nunmehr wurde das HgO weitergeglüht, bis sich mit Schwefelsäure und $FeSO_4$ keine Salpetersäure-Reaktion mehr erkennen ließ. Nunmehr hatte das Präparat seine adsorbierende Fähigkeit gegen Eosin völlig verloren. Nur aus den allerverdünntesten, kaum noch gefärbten Eosinlösungen wurde durch große Mengen von HgO ein Teil des Farbstoffes adsorbiert. Wir können also wohl extrapolieren, daß ganz reines HgO Eosin nicht meßbar adsorbiert.

Das Gesamtergebnis dieses Abschnitts ist also folgendes: Völlig reine Oxyde vom Charakter von Säure- oder Basenanhydriden, welche wirklich wasserunlöslich sind, d. h. dem Wasser weder saure noch alkalische Reaktion erteilen, adsorbieren überhaupt keine Farbstoffe in meßbaren Mengen. Die Adsorption verläuft bei ihnen vollständig unter dem Bilde einer chemischen Umsetzung und wird in den meisten Fällen überhaupt nur durch Verunreinigungen der Oberfläche ermöglicht. Neben dieser uneigentlichen Form der Adsorption findet eine eigentliche Adsorption, wie bei der Kohle, welche darin besteht, daß sowohl die Kationen, wie die Anionen von der Oberfläche angezogen werden, in sicher nachweisbarem Umfange nicht statt.

Bisherige Gesamtübersicht.

Überblicken wir jetzt die gesamten Resultate, so lassen sie sich kurz so zusammenfassen.

1. Bei der Kohle gibt es nur eine Art der Adsorption, die Äquivalentadsorption.

2. Bei unlöslichen salzartigen Adsorbentien gibt es nur eine Form der Adsorption, die Austauschadsorption.

3. Bei unlöslichen Oxyden saurer oder basischer Natur gibt es überhaupt keine Adsorption in nachweisbarem Umfange.

4. Die Sätze 2 und 3 können wir auch folgendermaßen vereinigen: Bei elektrolytartigen Adsorbentien ist die Adsorption identisch mit denjenigen Reaktionen, welche auf Grund der gewöhnlichen chemischen Affinitäten vorhergesagt werden können. Die Annahme besonderer Oberflächenkräfte zur Erklärung der Adsorption ist bei ihnen überflüssig. Die Annahme von Oberflächenkräften erscheint daher nur noch für die Kohle erforderlich. Wie wir diese zu deuten haben, werden wir gleich sehen.

V. Weitere allgemeine Schlüsse über Adsorption.

Fassen wir nun einmal die in dieser und früheren Arbeiten gewonnenen Resultate zusammen und heben einige Gesichtspunkte besonders heraus, so würden wir folgendes aussagen

können. Wir können inbezug auf das Verhalten bei der Adsorption mehrere Typen von Adsorbentien unterscheiden.

1. Die Kohle. Der Kohlenstoff ist der elektroneutralste Körper, den es gibt. Der Kohlenstoff steht ganz zentral in der ersten Reihe des periodischen Systems der Elemente. Er verbindet sich, wie kein anderes Element ohne auffällige Bevorzugung ebenso gern mit Atomen von elektropositivem wie elektronegativem Charakter. So adsorbiert auch der Kohlenstoff mit gleicher Leichtigkeit positive wie negative Ionen. Es ist höchstwahrscheinlich, daß der Kohlenstoff gegen Wasser überhaupt kein bestimmtes elektrisches Potential besitzt, sondern daß sein Potential immer nur durch die Adsorption von Ionenbildnern vorgeschrieben wird, und daher ein „Adsorptionspotential" ist. Der Kohlenstoff selber hat niemals die Tendenz, Ionen zu bilden. Es dürfte kaum ein zweites Element geben, von dem man dies mit solcher Bestimmtheit aussagen kann.

Der Kohlenstoff adsorbiert aber nicht nur sämtliche Ionenarten, sondern in viel höherem Maße noch zahlreiche nicht ionisierte, meist organische Körper. Diese Adsorbierbarkeit steht in der Regel in dem bekannten Zusammenhange mit der Oberflächenaktivität. Jedoch gibt es hiervon Ausnahmen, indem z. B. die gar nicht oberflächenaktiven Zucker zu den im mittleren Maße adsorbierbaren Körpern gehören. Es gibt allerdings keinen oberflächenaktiven Körper, der von der Kohle nicht leicht adsorbiert wird. Wohl aber gibt es nichtoberflächenaktive Körper, die ganz gut adsorbiert werden. Allen adsorbierbaren Körpern ist ihr hoher Kohlenstoffgehalt gemeinsam. Es hat geradezu den Anschein, als ob die Adsorption der Kohle der Ausdruck einer chemischen Affinität des Kohlenstoffs zum Kohlenstoff ist, dieselbe Affinität, die auch bei der Bildung von Kohlenstoffketten und -ringen hervortritt, die es in dieser Weise bei keinem anderen Element gibt.

Wir entfernen uns mit dieser Auffassung bedeutend von der üblichen Annahme, welche die Adsorption auf das Gibbssche Theorem zurückführt. Aber schon lange hat uns dieses Theorem praktisch nicht befriedigt. Seine Richtigkeit läßt sich weder beweisen noch widerlegen, da wir die Grenzflächenspannungen zwischen Wasser und Kohle nicht messen können. Nehmen wir an, daß diese Grenzflächenspannungen mit denen

gegen Luft symbat sind, so wird das Gibbssche Theorem nicht bestätigt (vergleiche die Zucker, die Neutralsalze), und nehmen wir an, daß sie nicht symbat sind, so läßt sich das Gibbssche Theorem nur durch eine petitio principii beweisen. Wir raten daher, das Gibbssche Theorem zur Erklärung der Adsorption überhaupt nicht in den Vordergrund zu stellen und erklären die Adsorption organischer Stoffe durch Kohle durch die chemische Affinität vom Kohlenstoff zum Kohlenstoff[1]).

Somit finden wir also im ganzen ein Adsorptionsvermögen der Kohle 1. zu kohlenstoffreichen, gelösten, unelektrischen Molekülen, 2. zu einigen anderen Elementen und Gasen (O_2, CO_2, H_2; J) im elektroneutralen Zustand, 3. in geringerem Grade zu allen Ionen in der Reihenfolge, wie wir sie in der früheren Arbeit beschrieben haben. Die Mannigfaltigkeit der chemischen Bindungsfähigkeit des Kohlenstoffs findet sich in seiner adsorptiven Bindungsfähigkeit völlig wieder.

2. Die wasserunlöslichen elektropositiven und negativen Adsorbentien, wie Kieselsäure oder Eisenoxyd. Diese Stoffe haben im Gegensatz zur Kohle zunächst einmal auch gegen reinstes Wasser eine elektrische Ladung, welche davon herrührt, daß ihre Atome oder Radikale die Tendenz haben, Ionen zu bilden. Ihre Unlöslichkeit im Wasser ist nicht wie bei der Kohle eine absolute, sondern nur eine praktische. Bei einigen von ihnen läßt sich die Löslichkeit vermittelst „Elektroden zweiter Gattung" haarscharf bestimmen, so klein

[1]) Entfernen wir uns von der üblichen Auffassung der Adsorption, so nähern wir uns der modernen Theorie der chemischen Valenz auf Grund der Elektronen-Atommodelle. Die Annäherung an diese Theorie ist uns selbst sehr überraschend gewesen, weil wir diesen neuesten Zweig der Atommodell-Lehre erst nach völliger Beendigung der Niederschrift dieser Arbeit kennen lernten. (Siehe den Sammelbericht: W. Kossel, Über die physikalische Natur der Valenzkräfte. Die Naturwissenschaften, 1919, Nr. 19/20.) Sobald man einmal in diese Theorie eingedrungen ist und mit uns die Adsorption auf chemische Affinitäten zurückführt, erscheint es einem fast selbstverständlich, daß gerade der Kohlenstoff infolge seiner Vierwertigkeit bei kleinstem Atomvolumen das beste Adsorptionsmittel überhaupt ist, daß er infolge seiner prinzipiellen Fähigkeit, ebensoviele negative Ladungseinheiten aufzunehmen und abzugeben, Anionen und Kationen gleich gut adsorbiert, und daß er gerade die kohlenstoffreichen organischen Körper mit ihren gehäuften Zentren elektrostatischer Anziehung so gut adsorbiert.

sie auch sein mag (z. B. bei CuO, Hg_2O, HgCl und vielen andern). Die adsorptiven Eigenschaften dieser Adsorbentien sind sehr verschieden von denen der Kohle, denn erstens besitzen sie das hohe Adsorptionsvermögen für kohlenstoffreiche Substanzen, seien es oberflächenaktive oder nichtoberflächenaktive, durchaus nicht. Nur mit Mühe läßt sich in wenigen Fällen und nur mit den feinsten Methoden die Spur einer Adsorption selbst der oberflächenaktivsten Körper nachweisen, worüber wir in einer weiteren Arbeit berichten werden.

Zweitens: Ein unmittelbares Adsorptionsvermögen besitzen sie nur im allgemeinen für Ionen entgegengesetzter Ladung.

3. Mäßig schwerlösliche Substanzen als Adsorbentien, wie z. B. $CaCO_3$. Im Prinzip verhalten sich diese Stoffe ähnlich wie die vorigen. Bringt man sie mit einer Elektrolyt-Lösung zusammen, so könnte man ihre Reaktion mit dem Elektrolyten auch als eine Adsorption auffassen. Da sie aber eine merkliche Löslichkeit in Wasser besitzen, so kann man sich diese Reaktion in der wäßrigen Phase abspielend denken, und die Adsorption besteht dann darin, daß eine chemische Umsetzung auf Grund der bekannten chemischen Affinitäten und nach Maßgabe des Massenwirkungsgesetzes zwischen dem Adsorbens und Adsorbendum durch Vermittelung der wäßrigen Lösung stattfindet.

Zwischen diesen drei Fällen, besonders zwischen dem zweiten und dritten, gibt es alle Übergänge. Den Übergang von dem ersten zum zweiten Fall wollen wir hier noch nicht erörtern. Aber besonders der dritte Fall kann in sehr verschiedenen Unterscheidungsformen auftreten. Von gewissen Nebenumständen kann es abhängen, ob wir bei einem Prozeß den zweiten oder den dritten Typus anzunehmen haben. Einige Beispiele werden das erläutern.

Versetzen wir eine wäßrige Aufschwemmung von Kalomel mit JK, so wird das Kalomel in Mercurojodid umgewandelt. Diesen Vorgang kann man sich auch in der wäßrigen Phase abspielend denken. Die Behauptung, daß die Bindung des Jod durch das feste Kalomel eine Adsorption unter Verdrängung des Cl sei, wäre ungebräuchlich, aber nicht falsch. Versetzen wir aber eine wäßrige Aufschwemmung von Kupferhydroxyd mit Ferrocyankalium, so umgibt sich das feste Kupferhydroxyd

schnell mit einer für Ionen undurchlässigen Schicht von Ferrocyankupfer, der Prozeß steht still, und man könnte sagen, die Oberfläche des Kupferhydroxyds habe Ferrocyanionen adsorbiert unter Verdrängung von OH-Gruppen. Scheinbar handelt es sich hier also nur um Definition von Worten, im Grunde aber liegt die Sache tiefer. Denn bei unserer Darstellung besteht im Grunde gar kein Unterschied zwischen einer chemischen Verbindung und einer Adsorptionsverbindung. Mit dieser Behauptung wird man aber auf Widerstand stoßen, denn die Gegenüberstellung der chemischen Verbindung und der Adsorptionsverbindung, welche ein physikalischer Vorgang sei, beherrscht heute die Lehre von der Adsorption.

Mehr und mehr hat sich nämlich die Anschauung verbreitet, daß die Kräfte, die die Adsorption veranlassen, nicht chemische Affinitäten seien, sondern Kräfte, die den Oberflächen der Körper innewohnen, mit ihnen entstehen und vergehen. Nach unserer Auffassung dagegen beruhen diese Adsorptionen auf chemischen Affinitäten, welche nicht erst mit der Oberfläche entstehen, sondern dem Stoff des Adsorbens anhaften, die aber infolge der Unlöslichkeit des Adsorbens nur aus der oberflächlichsten Schicht desselben zur Wirkung gelangen können.

Es erscheint vielleicht gekünstelt, einen so scharfen Unterschied zu machen zwischen einer Kraft, die zwar überall in dem Stoff vorhanden ist, sich aber nur an der Oberfläche äußern kann, und einer Kraft, die erst mit der Oberfläche zugleich entsteht. Dennoch ist dieses theoretisch von größter Wichtigkeit. Wollte man nämlich den gesamten Gehalt eines Körpers an innerer Energie berechnen, so würde sich ein verschiedener Wert ergeben, ob man der Oberfläche als solcher eine besondere Energieform zuschreibt oder nicht. Die zur Zerkleinerung eines amorphen festen Körpers erforderliche Arbeit würde in dem einen Fall teilweise als „Oberflächenenergie“ wiedererscheinen, in dem anderen Fall ganz in Wärme umgewandelt werden. Ohne nun die Existenz einer spezifischen Oberflächenenergie bezweifeln zu wollen, glauben wir doch, daß sie nicht ausreicht, um alle Adsorptionserscheinungen zu erklären.

Im übrigen haben auch Abderhalden und Fodor[1]) chemisch-konstitutionelle Einflüsse bei der Adsorption der verschiedenen Aminosäuren durch Kohle betont.

Um die Berechtigung unserer Auffassung zu erweisen, wollen wir eine Frage aufwerfen, deren Beantwortung zur Klärung dieses Problems beitragen wird. Wenn es wahr ist, daß die Adsorptionsverbindung etwas anderes ist als die chemische Verbindung, so müßten wir einen Fall nachweisen können, wo zwei chemische Körper das eine Mal eine Adsorptionsverbindung, das andere Mal eine chemische Verbindung eingehen, und diese beiden Verbindungen müßten chemisch verschieden sein. Ein solcher Fall wär z. B. folgender:

a) Versetzt man eine wäßrige Lösung von Eosinkalium mit $FeCl_3$, so fällt das unlösliche Ferrisalz des Eosin aus.

b) Schüttelt man Ferrihydroxyd mit einer Lösung von Eosinkalium, so wird Eosin vom Eisenoxyd adsorbiert. Ist nun diese Adsorptionsverbindung Ferrieosinat oder eine Adsorptionsverbindung von Ferrihydroxyd mit Eosinkalium?

Wir haben nun bewiesen, daß bei der Adsorption eines neutralen Salzes, wie Eosinkalium niemals KOH entsteht. Andererseits haben wir gezeigt, daß sich trotzdem eine der adsorbierten Eosinmenge äquivalente Menge Alkaliionen in Lösung findet, neutralisiert durch irgend eine Säure, welche von der verunreinigten Oberfläche des Eisenhydroxyds verdrängt worden ist. Diesen letzten Umsatz des Eosinkaliums mit den Verunreinigungen wird man ungezwungen zu den chemischen Umsetzungen rechnen. Besteht die Verunreinigung z. B. aus schwerlöslichem basischem Ferrichlorid, so setzt sich dies einfach mit Eosinkalium zu Ferrieosinat und KCl um. Mehr als diese chemische Umsetzung es gestattet, wird vom Eosin nicht adsorbiert. Je reiner das Metalloxyd ist, um so schlechter adsorbiert es Eosin. (Wohlgemerkt aus ganz reiner, neutraler, wäßriger Lösung.)

Wir können somit behaupten, wenn wir von allen Verdrängungserscheinungen durch die Verunreinigungen der Oberflächen absehen: 1. Zwischen Kohle und einem Neutralsalz gibt es nur eine Art von Verbindung, nämlich die Verbindung der

[1]) Fermentforschung 2, 74, 1917.

Kohle mit dem gesamten Neutralsalz, d. h. mit seinen beiden Ionen. 2. Zwischen einem elektrolytartigen Adsorbens und einem Elektrolyten gibt es ebenfalls nur eine Art der Anziehung. Sie beruht in den hier untersuchten Fällen allein auf der Anziehung zwischen einem Bestandteil des Adsorbens und dem entgegengesetzt geladenen Ion, und kann nur soweit vor sich gehen, als es die gewöhnlichen chemischen Gesetze des Umsatzes, besonders das Gesetz des Löslichkeitsprodukts, gestatten. Dieser wichtige Unterschied gegenüber der Kohle beruht in letzter Linie nur darauf, daß diese Adsorbentien immer nur eins der beiden gelösten Ionen anziehen, die Kohle aber beide.

Jetzt ist es nur noch ein kleiner Gedankenschritt, wenn wir die gewonnene Erkenntnis in folgender Form ausdrücken: Diejenige Fähigkeit des Kohlenstoffs, welche wir bisher als sein Adsorptionsvermögen bezeichneten, ist das Äquivalent für die ihm sonst bei niederen Temperaturen völlig abgehende chemische Affinität. Einen Gegensatz zwischen einer chemischen Verbindung und einer Adsorptionsverbindung zu konstruieren, ist unberechtigt.

Es bleibt jetzt übrig, die Adsorption an elektroamphoteren Substanzen, insbesondere an eiweißartigen Körpern zu besprechen, sowie auch den Fall zu betrachten, daß das Adsorbendum ein Kolloid ist. Dies soll in einer besonderen Arbeit geschehen.

VI. Zusammenfassung.

I. Zum Studium der Adsorption der Salze sind die organischen Farbstoffe ein sehr geeignetes Objekt, weil bei diesen der Unterschied der Adsorbierbarkeit von Anion und Kation besonders stark ausgeprägt ist. Daher müßten sich die sich aus diesem Unterschied ergebenden Gesetzmäßigkeiten experimentell bei ihnen am leichtesten nachweisen lassen.

II. Die Adsorbentien kann man nach ihrer chemischen Natur einteilen in

1. Kohlenstoff (von indifferenter Natur), begabt mit Affinitäten ebensowohl für Anionen wie für Kationen, aber auch

für elektroindifferente, besonders für kohlenstoffreiche Körper, die häufig, aber nicht immer „oberflächenaktiv“ sind.

2. Elektrolytartige Adsorbentien, welche ihrer chemischen Natur nach entweder eine unlösliche Säure oder Base (oder deren Anhydride) oder Salze sind.

III. Bei der Adsorption eines Salzes sind folgende Vorgänge zu unterscheiden:

1. Die Äquivalentadsorption d. h. die Adsorption des Salzes, insoweit als äquivalente Mengen des Anions und Kations des Salzes adsorbiert werden.

2. Die hydrolytische Adsorption, d. h. die Spaltung des Salzes in Säure und Base und alleinige Adsorption entweder der Säure oder der Base.

3. Die Austauschadsorption, wobei das zu adsorbierende Anion (bzw. Kation) gegen ein in dem Adsorbens vorhandenes Anion (bzw. Kation) ausgetauscht wird.

4. Die Aufladungsadsorption, bestehend in der isolierten Adsorption von Anionen oder von Kationen. Diese kann niemals chemisch analytisch nachweisbar sein, sondern äußert sich nur durch elektrische Aufladung.

IV. Die vorliegende Arbeit beschäftigt sich nur mit den drei ersten, chemisch nachweisbaren Formen der Adsorption und sucht in jedem einzelnen Falle den prozentischen Anteil festzustellen, welchen jede dieser drei Formen an der gesamten Adsorption hat. Hierbei ergab sich folgendes:

1. Bei der Kohle ist unter allen Umständen die Adsorption in ihrem ganzen Umfange eine Äquivalentadsorption. Alle scheinbaren Abweichungen von diesem Gesetz sind auf die Verunreinigungen der Kohle zurückzuführen.

2. Bei den elektrolytartigen Adsorbentien von salzartiger Zusammensetzung ist die gesamte Adsorption unter allen Umständen eine Austauschadsorption.

3. Die elektrolytartigen Adsorbentien vom Charakter der Säuren und Basen haben, je reiner sie sind, ein umso geringeres Adsorptionsvermögen für Farbstoffe und dürften in ganz reinem Zustande einer analytisch meßbaren Adsorption nicht fähig sein.

4. Eine hydrolytische Adsorption konnte in keinem einzigen Falle nachgewiesen werden.

5. Bei den elektrolytartigen Adsorbentien verläuft die Adsorption genau so, wie sie auf Grund der chemischen Natur von Adsorbens und Adsorbendum zu erwarten ist. Die Annahme besonderer Oberflächenkräfte zur Erklärung der Adsorption ist bei ihnen überflüssig.

6. Aber auch bei der Kohle ist es nicht notwendig die Oberfläche als den Sitz einer besonderen, nichtchemischen Kraft zu betrachten, welche die Adsorption veranlaßt, vielmehr erscheint es vorteilhafter, das Adsorptionsvermögen des Kohlenstoffs ebenfalls auf chemische Affinitäten desselben zurückzuführen, welche bei der eigenartigen Stellung des Kohlenstoffs im periodischen System sich in gleicher Weise auf Anionen wie Kationen, aber auch auf elektroindifferente, besonders auf sehr kohlenstoffreiche Moleküle erstrecken.

Über die Adsorption der H- und OH-Ionen und der Schwermetallionen durch Kohle.

Von

Peter Rona und Leonor Michaelis.

(Aus den biologischen Laboratorien des städt. Krankenhauses am Urban, Berlin.)

(Eingegangen am 26. Juni 1919.)

In einer früheren Arbeit[1]) konnte gezeigt werden, daß die H- und OH-Ionen zu den weitaus stärkst adsorbierbaren Ionen gehören[2]). Es liegt nun die Frage nahe, die Adsorbierbarkeit des H-Ions und des OH-Ions miteinander zahlenmäßig zu vergleichen. Der Grund, warum man das nicht ohne weiteres untersuchen kann, ist, daß man niemals eine reine H-Ionen-Lösung, sondern immer nur eine Säure vor sich hat, und ebenso die OH-Ionen immer nur in Form einer Base. Man kann also nur die Adsorption von z. B. HCl und NaOH miteinander vergleichen. Das H-Ion ist aber viel stärker adsorbierbar, als das Cl-Ion, folglich zieht das H-Ion die Cl-Ionen an die Kohlenoberfläche, und das gefundene Gleichgewicht ist weder das reine Adsorptionsgleichgewicht der H-Ionen, noch das der Cl-Ionen, sondern es liegt dazwischen. Die wahre Adsorbierbarkeit der H-Ionen könnte nur dann gemessen werden, wenn es gelänge, den Versuch so einzurichten, daß die Cl'-Ionen kräftefrei mitgeschleppt werden. Überlegen wir, welcher Kraft es bedarf, um die einzelnen Ionen an die Kohlenoberfläche zu befördern.

Verfolgen wir zunächst die Verhältnisse bei einem unelektrischen Körper wie Aceton. Das Adsorptionsgleichgewicht

---

[1]) Vgl. diese Zeitschr. 94, 240, 1919.

[2]) Hierbei sei zunächst von Ionen einiger Schwermetalle abgesehen.

ist naturgemäß dadurch charakterisiert, daß es keiner Arbeit bedarf, um 1 Mol Aceton aus der Lösung an die Kohle zu befördern, wenn wir das System so groß wählen, daß durch Entfernung des einen Mol Aceton aus der Lösung keine meßbare Konzentrationsänderung der Lösung entsteht. Betrachten wir einen Zustand, bei dem das Adsorptionsgleichgewicht noch nicht eingetreten ist, und fragen, welche maximale Arbeit gewonnen werden kann, wenn 1 Mol Aceton an die Kohlenoberfläche geht, so können wir zur Beantwortung dieser Frage folgenden Prozeß verlaufen lassen. Die Acetonlösung habe die Konzentration C. Wir diluieren die Lösung auf osmotischem Wege (vermittels eines semipermeablen Stempels) auf die Konzentration C_0, die der Gleichgewichtskonzentration für die gegebene Kohlenmenge entspricht. Hierbei gewinnen wir die Arbeit $nRT\ln\frac{C}{C_0}$, wo n die Anzahl der Mole Aceton in der Lösung bezeichnet. Nunmehr lassen wir das eine Mol Aceton an die Kohle gehen. Dies geschieht kräftefrei, da es in der Gleichgewichtskonzentration erfolgt. Wir nehmen natürlich wieder an, daß das System so groß gewählt ist, daß durch den Fortgang des einen Mols Aceton eine meßbare Konzentrationsänderung nicht eintritt. Zum Schluß komprimieren wir die Lösung wieder auf die Konzentration C. Da jetzt nur noch $n-1$ Mole Aceton in der Lösung sind, so müssen wir dazu die Arbeit $(n-1)RT\ln\frac{C}{C_0}$ aufwenden. Insgesamt ist also zur Beförderung von 1 Mol Aceton bei der Konzentration C an die Kohlenoberfläche die Arbeit $RT\ln\frac{C}{C_0}$ gewinnbar. Wir sehen also, daß diese Arbeit von dem Verhältnis $C:C_0$ abhängt.

Betrachten wir nunmehr die Adsorption der Salzsäure. Die H-Ionen würden bei einer gegebenen Konzentration an HCl und gegebener Kohlenmenge die Gleichgewichtskonzentration C_0^+ erreichen, wenn sie nicht durch die Cl-Ionen zurückgehalten würden. In Wirklichkeit werden sie daher nicht so weit adsorbiert, daß die Konzentration C_0^+ in der Lösung bleibt, sondern die (größere) Konzentration C^+. Die Cl-Ionen würden ohne die elektrostatische Anziehung durch die H-Ionen die Gleichgewichtskonzentration C_0^- in der Lösung nach beendeter

Adsorption erreichen. Unter dem Einfluß der H-Ionen werden sie aber an die Kohle mitgeschleppt, und es bleibt in Lösung nur die Konzentration C^-, welche gleich C^+ sein muß. Nunmehr können wir die Frage lösen, mit welcher Kraft die Chlorionen von den H-Ionen mitgeschleppt werden. Messen wir diese Kraft an der Arbeit, die 1 g-Ion Cl' maximal liefern kann, wenn es mitgeschleppt wird, so ist diese Arbeit $= RT \ln \frac{C_0^-}{C^-}$.

Wir könnten nun diese Arbeit unmeßbar klein machen, wenn es gelänge, den Versuch so einzurichten, daß C_0^- von C^- relativ nur sehr wenig verschieden ist. Das können wir erreichen, wenn wir einen Überschuß eines Chlorids, z. B. KCl, zugeben. Wenn wir z. B. eine Lösung von 0,01 n HCl + 1 n KCl mit Kohle zusammenbringen, so wird von den Cl-Ionen nicht merklich mehr adsorbiert, als aus einer Lösung von nur 1 n KCl. Der Einfluß, den die zugefügte HCl auf das Adsorptionsgleichgewicht des Cl hat, ist verschwindend klein. Auch Salzsäure wird jetzt adsorbiert, und zwar müssen die H-Ionen auch in diesem Falle die äquivalente Menge Cl-Ionen aus der Lösung an die Kohle mitnehmen, aber dadurch wird die Konzentration der Cl-Ionen der Lösung relativ kaum geändert. Da aber die zum Mitschleppen von 1 g-Ion erforderliche Arbeit nur von dem Verhältnis der Cl'-Konzentration der Lösung vor Beginn der Adsorption und am Ende derselben abhängt, so geht die Mitschleppung der Cl-Ionen so gut wie kräftefrei vor sich; die H-Ionen werden durch die Cl-Ionen an der Erreichung ihres wahren Adsorptionsgleichgewichts nicht gehindert.

Bereits auf Grund unserer Befunde bei der Adsorption von $AlCl_3$ + NaCl an Kohle mußten wir annehmen, daß durch das Hinzufügen des Chlorids zu der Salzsäure eine Erhöhung der Adsorbierbarkeit der Salzsäure eintreten wird[1]). Bei diesen Versuchen ersetzten wir in einer in der Konzentration an Cl' konstant gehaltenen $AlCl_3$ + NaCl-Lösung das Al in steigendem Maße durch Na; es ergab sich dabei, daß wir mit der Al-Menge sehr weit heruntergehen können, ohne daß geringere Mengen adsorbiert würden, als aus einer reinen $AlCl_3$-Lösung, obgleich

[1]) Diese Zeitschr. **94**, 240, 1919.

I. 1.	100 ccm	1,9950 n-HCl			mit	15 g	Kohle[1]	geschütt.;	adsorbiert	0,2200 n-HCl
2 a).	80 „	1,9950 n-HCl	+ 20 ccm	dest. Wasser	„	15 g	„	„	„	0,1935 n-HCl
b).	80 „	1,9950 n-HCl	+ 20 „	2 n-NaCl	„	15 g	„	„	„	0,2135 n-HCl
3 a).	60 „	1,9950 n-HCl	+ 40 „	dest. Wasser	„	15 g	„	„	„	0,1720 n-HCl
b).	60 „	1,9950 n-HCl	+ 40 „	2 n-NaCl	„	15 g	„	„	„	0,1820 n-HCl
4 a).	40 „	1,9950 n-HCl	+ 60 „	dest. Wasser	„	15 g	„	„	„	0,1355 n-HCl
b).	40 „	1,9950 n-HCl	+ 60 „	2 n-NaCl	„	15 g	„	„	„	0,1680 n-HCl
5 a).	20 „	1,9950 n-HCl	+ 80 „	dest. Wasser	„	15 g	„	„	„	0,0963 n-HCl
b).	20 „	1,9950 n-HCl	+ 80 „	2 n-NaCl	„	15 g	„	„	„	0,1333 n-HCl
6 a).	10 „	1,9950 n-HCl	+ 90 „	dest. Wasser	„	15 g	„	„	„	0,0735 n-HCl
b).	10 „	1,9950 n-HCl	+ 90 „	2 n-NaCl	„	15 g	„	„	„	0,1005 n-HCl
II. 1.	100 ccm	0,1985 n-HCl			mit	3 g	Kohle	geschüttelt;	adsorbiert	0,0185 n-HCl
2 a).	80 „	0,1985 n-HCl	+ 20 ccm	dest. Wasser	„	3 g	„	„	„	0,0178 n-HCl
b).	80 „	0,1985 n-HCl	+ 20 „	0,2 n-NaCl	„	3 g	„	„	„	0,0181 n-HCl
3 a).	60 „	0,1985 n-HCl	+ 40 „	dest. Wasser	„	3 g	„	„	„	0,0146 n-HCl
b).	60 „	0,1985 n-HCl	+ 40 „	0,2 n-NaCl	„	3 g	„	„	„	0,0161 n-HCl
4 a).	40 „	0,1985 n-HCl	+ 60 „	dest. Wasser	„	3 g	„	„	„	0,0157 n-HCl
b).	40 „	0,1985 n-HCl	+ 60 „	0,2 n-NaCl	„	3 g	„	„	„	0,0164 n-HCl
5 a).	20 „	0,1985 n-HCl	+ 80 „	dest. Wasser	„	3 g	„	„	„	0,0109 n-HCl
b).	20 „	0,1985 n-HCl	+ 80 „	0,2 n-NaCl	„	3 g	„	„	„	0,0128 n-HCl
6 a).	10 „	0,1985 n-HCl	+ 90 „	dest. Wasser	„	3 g	„	„	„	0,0103 n-HCl
b).	10 „	0,1985 n-HCl	+ 90 „	0,2 n-NaCl	„	3 g	„	„	„	0,0113 n-HCl

[1]) Benutzt wurde, wie in den früheren Arbeiten, Carbo animalis von Merck.

aus einer reinen NaCl-Lösung viel weniger adsorbiert wird als aus einer reinen $AlCl_3$-Lösung.

Gemäß der für diese Erscheinung gegebenen Erklärung[1]), welche wir soeben ausführlich begründet zu haben glauben, war zu erwarten, daß Zusatz von KCl zu HCl eine „Erhöhung" der Adsorption von HCl bewirken würde. Das war, wie die nebenstehenden Versuchsreihen (vgl. die Tabelle auf S. 88) zeigen, in der Tat auch der Fall.

Wie ersichtlich, wirkte der Zusatz von NaCl zu HCl in jedem Falle im Sinne einer Erhöhung der Adsorption der Salzsäure, und zwar war diese „Erhöhung" um so deutlicher, je größer die Konzentration des NaCl im Verhältnis zu der der Säure war.

Wie wir sehen, ließe sich die Adsorbierbarkeit des H-Ions unabhängig von der Beeinflussung durch das begleitende Anion durch eine Extrapolation mit einiger Annäherung bestimmen. Wenn wir nunmehr die Adsorbierbarkeit des OH-Ions nach ähnlichen Prinzipien messen wollen, so müssen wir beispielsweise 0,01 n-KOH ebenfalls mit 1 n-KCl mischen. Dann wird die Adsorption der OH-Ionen vor sich gehen, ohne daß Arbeit notwendig wäre, die nötige Menge K-Ionen mitzuschleppen. So werden die OH-Ionen unter denselben Bedingungen adsorbiert, wie vorher die H-Ionen, und wir sind in der Lage, diese gewissermaßen „absolute" Adsorption der H- und OH-Ionen zu messen und miteinander zu vergleichen.

Diese Überlegungen erleiden jedoch eine gewisse Einschränkung. Die Bedingungen sind nämlich vor und nach Zusatz der KCl nicht völlig dieselben, wenn wir an das Mitspielen der Verdrängungserscheinungen denken. Außer der befördernden Wirkung des Neutralsalzes kommt noch eine hemmende in Betracht, infolge der gegenseitigen Verdrängung zweier adsorbierbarer Stoffe. Die H-Ionen werden im wesentlichen durch die K-Ionen verdrängt, die OH-Ionen aber durch die Cl'-Ionen. Da nun wahrscheinlich K˙ und Cl' nicht die gleiche Adsorbierbarkeit besitzen (Cl' ist sicherlich viel stärker adsorbierbar als K˙), so wird auch das Verdrängungsvermögen des K˙ und Cl' verschieden groß sein. Diese Beeinflussung der Adsorption der betreffenden Ionen kann jedoch nur wenig ins Gewicht fallen.

[1]) Vgl. S. 255 in der zitierten Arbeit.

Denn die H- und OH-Ionen sind so sehr viel stärker adsorbierbar als K˙ und Cl′, daß die Verdrängung überhaupt sehr gering ist. Dies zeigen die Versuche, bei denen dieselbe Säure- bzw. Basenmenge mit wachsenden Chloridmengen — $^1/_2$, 1, 2 n-KCl — versetzt von der Kohle adsorbiert wurden. Bei der höheren Konzentration müßte die verdrängende Wirkung des Cl′- bzw. K-Ions stärker in Erscheinung treten, d. h. die begünstigende Wirkung des KCl müßte bei steigender Konzentration desselben wieder abnehmen. Es ergab sich jedoch, daß die „erhöhende" Wirkung des Salzzusatzes in jedem Falle die „verdrängende" überkompensiert hat[1]).

Wir kommen also zu dem Schluß, daß die oben begründete Versuchsanordnung (Adsorption der Säure oder der Base bei Anwesenheit einer sehr großen Menge eines Salzes mit demselben Anion bzw. Kation) ermöglicht, die Adsorption der H-Ionen und der OH-Ionen „als solche" angenähert zu messen.

Eine weitere Folgerung dieser Überlegung ist, daß wir unter gegebenen Bedingungen dieselbe Adsorbierbarkeit des H-Ions finden müssen, wenn wir verschiedene Säuren (HCl, HNO_3, H_2SO_4) durch Kohle adsorbieren lassen, falls wir nur dafür sorgen, daß durch reichliches Hinzufügen eines Salzes mit demselben Anion die Adsorption des H-Ions „an sich" beobachtet wird. Allerdings werden wir dieses Ziel nur annähernd erreichen können. Mit dem wachsenden Zusatz an Salz wird nicht nur die verdrängende Wirkung des Kations störend eingreifen, sondern wir verlassen damit auch immer mehr das Gebiet der verdünnten Lösungen, und schaffen durch Zurückdrängung der Dissoziation der Säure u. a. wenig übersichtliche

[1]) Bei dem sehr stark adsorbierbaren SCN-Ion kann jedoch in der gegebenen Versuchsanordnung eine verdrängende Wirkung deutlich beobachtet werden. Dies zeigen folgende Versuche.

1. 100 ccm 0,0102 n-KOH wurden mit 1,0023 g Kohle geschüttelt; adsorbiert 0,0025 n-KOH.

2. 100 ccm 0,01005 n-KOH in 1 n-KCl-Lösung wurden mit 1,0020 g Kohle geschüttelt; adsorbiert 0,0046 n-KOH.

3. 100 ccm 0,0098 n-KOH in 1 n-KSCN-Lösung wurden mit 1,0020 g Kohle geschüttelt; adsorbiert 0,0037 n-KOH.

KCSN begünstigt also zwar noch die Adsorption der Lauge, aber weniger als KCl: Superposition einer verdrängenden Wirkung der CNS-Ionen über die fördernde der K-Ionen.

Verhältnisse. Wir müssen uns demnach begnügen, die Größenordnung der erwarteten „Grenzwerte“ der Adsorption festzustellen.

Die in dieser Richtung angestellten Versuche ergaben folgendes.

I. 1. 100 ccm 0,0095 n-HCl wurden mit 1,0019 g Kohle geschüttelt. Nachher gefunden 0,0060 n-Säure, adsorbiert wurde eine 0,0035 n entsprechende Menge.

2. 100 ccm 0,0095 n-HCl in 0,5 n-KCl-Lösung wurden mit 1,0026 g Kohle geschüttelt. Nachher gefunden 0,0051 n-Säure; adsorbiert 0,0044 n-HCl.

3. 100 ccm 0,0095 n-HCl in 1 n-KCl-Lösung wurden mit 1,0036 g Kohle geschüttelt. Nachher gefunden 0,050 n-HCl; adsorbiert 0,0045 n-HCl.

4. 100 ccm 0,0094 n-HCl in 2 n-KCl wurden mit 1,0028 g Kohle geschüttelt. Gefunden nachher im Filtrat 0,0048 n-HCl, adsorbiert 0,0046 n-HCl.

II. 1. 100 ccm 0,0095 n-HNO_3 wurden mit 1,0027 g Kohle geschüttelt. Gefunden nachher im Filtrat 0,0057 n-HNO_3, adsorbiert 0,0038 n-HNO_3.

2. 100 ccm 0,0094 n-HNO_3 in 0,5 n-KCl-Lösung wurden mit 1,0030 g Kohle geschüttelt. Gefunden nachher im Filtrat 0,0049 n-HNO_3, adsorbiert 0,0045 n-HNO_3.

3. 100 ccm 0,0096 n-HNO_3 in 1 n-KCl-Lösung wurden mit 1,0023 g Kohle geschüttelt. Gefunden nachher im Filtrat 0,0050 n-HNO_3, adsorbiert 0,0046 n-HNO_3.

4. 100 ccm 0,0094 n-HNO_3 in 2 n-KCl-Lösung wurden mit 1,0010 g Kohle geschüttelt. Gefunden nachher im Filtrat 0,0050 n-HNO_3, adsorbiert 0,0044 n-HNO_3.

III. 1. 100 ccm 0,0100 n-H_2SO_4 wurden mit 1,0023 g Kohle geschüttelt. Gefunden im Filtrat 0,0065 n-H_2SO_4, adsorbiert 0,0035 n-Säure.

2. 100 ccm 0,0099 n-H_2SO_4 in $^1/_4$ Mol K_2SO_4-Lösung wurde mit 1,0020 g Kohle geschüttelt. Gefunden im Filtrat 0,0060 n-H_2SO_4, adsorbiert 0,0039 n-Säure.

3. 100 ccm 0,0100 n-H_2SO_4 in $^1/_2$ Mol K_2SO_4-Lösung wurde mit 1,0024 g Kohle geschüttelt. Gefunden nachher im Filtrat 0,0058 n-H_2SO_4, adsorbiert 0,0042 n-Säure.

4. 100 ccm 0,0100 n-H_2SO_4 in $^1/_2$ Mol $CdSO_4$-Lösung wurde

mit 1,0000 g Kohle geschüttelt. Gefunden nachher im Filtrat 0,0060 n-H_2SO_4, adsorbiert wurden 0,0040 n-Säure.

Die Versuche entsprachen den gemachten Voraussetzungen. In allen drei Fällen wurde die Adsorbierbarkeit der betreffenden Säure durch den Salzzusatz erhöht und strebte einem Wert zu, der bei den verschiedenen Säuren gleich war. Es wurden von ihnen bei einer Konzentration von 0,01 n von 1 g Kohle und 100 ccm Gesamtvolumen 40 bis 45 % adsorbiert, unabhängig von der Natur des Anions.

Wir sind aber durch unsere Versuchsanordnung auch in der Lage, die Adsorbierbarkeit des H- und OH-Ions direkt miteinander zu vergleichen.

Bezüglich des OH-Ions ergab der Versuch folgendes:

I. 1. 100 ccm 0,0100 n-KOH wurden mit 1,0020 g Kohle geschüttelt. Gefunden im Filtrat 0,0073 n-KOH, adsorbiert 0,0027 n-KOH.

2. 100 ccm 0,0100 n-KOH in $^1/_2$ n-KCl-Lösung wurden mit 1,0016 g Kohle geschüttelt. Gefunden im Filtrat 0,0058 n-KOH, adsorbiert 0,0042 n-KOH.

3. 100 ccm 0,0098 n-KOH in 1 n-KCl-Lösung wurden mit 1,0048 g Kohle geschüttelt. Gefunden im Filtrat 0,0053 n-KOH, adsorbiert 0,0045 n-KOH.

4. 100 ccm 0,0097 n-KOH in 2 n-KCl-Lösung wurden mit 1,0022 g Kohle geschüttelt. Gefunden im Filtrat 0,0057 n-NaOH, adsorbiert 0,0040 n-KOH.

II. 1. 100 ccm 0,0103 n-KOH wurden mit 1,0000 g Kohle geschüttelt. Gefunden im Filtrat 0,0074 n-KOH, adsorbiert 0,0029 n-KOH.

2. 100 ccm 0,01015 n-KOH in $^1/_2$ n-KCl-Lösung wurden mit 1,0000 g Kohle geschüttelt. Gefunden im Filtrat $0{,}0059_5$ n-KOH, adsorbiert 0,0042 n-KOH.

3. 100 ccm 0,0101 n-KOH in 1 n-KCl-Lösung wurden mit 1,0000 g Kohle geschüttelt. Gefunden im Filtrat $0{,}0056_5$ n-KOH, adsorbiert $0{,}0044_5$ n-KOH.

4. 100 ccm 0,00975 n-KOH in 2 n-KCl-Lösung wurden mit 1,0000 g Kohle geschüttelt. Gefunden im Filtrat $0{,}0050_8$ n-KOH, adsorbiert $0{,}0046_7$ n-KOH.

III[1]). 1. 100 ccm $0{,}0101_4$ n-NaOH wurden mit 1,0025 g Kohle geschüttelt. Gefunden im Filtrat $0{,}0070_2$ n-NaOH, adsorbiert $0{,}0031_2$ n-NaOH.

2. 100 ccm $0{,}0099_0$ n-NaOH in $^1/_2$ n-NaCl-Lösung wurden mit 1,0029 g Kohle geschüttelt. Gefunden im Filtrat $0{,}0053_1$ n-NaOH, adsorbiert $0{,}0045_9$ n-NaOH.

3. 100 ccm $0{,}00101_1$ n-NaOH in 1 n-NaCl-Lösung wurden mit 1,0024 g Kohle geschüttelt. Gefunden im Filtrat $0{,}0054_4$ n-NaOH, adsorbiert $0{,}0046_7$ n-NaOH.

4. 100 ccm $0{,}0095_3$ n-NaOH in 2 n-NaCl-Lösung wurden mit 1,0030 g Kohle geschüttelt. Gefunden im Filtrat $0{,}0048_7$ n-NaOH, adsorbiert $0{,}0046_6$ n-NaOH.

Es ergibt sich hierbei das bemerkenswerte Resultat, daß die Größe der Adsorption der OH-Ionen (unter vergleichbaren Bedingungen) mit der der H-Ionen übereinstimmt, soweit sich dies experimentell feststellen läßt. Obgleich die Lauge bedeutend schwächer als die Säure adsorbiert wird, ist der „Grenzwert“ der Adsorption bei Gegenwart von Salzüberschuß in beiden Reihen gleich. H- und OH-Ionen werden demnach von der Kohle gleich stark adsorbiert. Abgesehen von der allgemeinen Bedeutung dieser Tatsache, würde sie ergeben, daß die Kohle vom „reinen“ Wasser nicht aufgeladen werden kann. Hiermit dürfte die Schwierigkeit kataphoretischer Versuche von Kohle in Wasser zusammenhängen[2]). Das Gleichgewicht ist folgendes: 1 ccm Lösung mit einem Gehalt von 0,0055 Millimolen $H^{\cdot}$ oder OH' ist im Gleichgewicht mit 1 g Kohle, beladen mit 0,0045 Millimolen $H^{\cdot}$- oder OH'-Ionen.

II.

Von den von uns bis jetzt geprüften Ionenarten wurden die H- und OH-Ionen von der Kohle am stärksten adsorbiert. Ionenarten, die in ihrer Adsorbierbarkeit dem H-Ion nicht nur vergleichbar sind, sondern diese zum Teil noch übertreffen, sind einige Schwermetallionen. Hierüber liegen bereits verschiedene Beobachtungen von Morawitz vor[3]). Wir haben auch

[1]) In diesem Versuch wurde der Gehalt an KOH nach Versetzung mit einer bekannten überschüssigen HCl-Menge jodometrisch bestimmt, in allen anderen Versuchen acidimetrisch (Indicator: Methylorange).

[2]) Persönliche Mitteilung von Herrn Prof. Freundlich.

[3]) Morawitz, Kolloidchem. Beihefte 1, **316**, 1910.

in dieser Richtung einige Untersuchungen angestellt, die wir jetzt mitteilen wollen.

Außerordentlich stark wird, wie bereits Morawitz gefunden, das $Hg^{\cdot\cdot}$-Ion adsorbiert.

Wurden 100 ccm 0,1 Mol $HgCl_2$ mit 1,0078 g Kohle geschüttelt, so wurden gefunden Hg mg-Äquivalente in 1 ccm

vor der Adsorption	nach der Adsorption	adsorbiert
0,2000	0,1280	0,0720

während von Chlor 0,0725 Äquivalente adsorbiert wurden.

Wurden 100 ccm 0,05 Mol $HgCl_2$ mit 1,0045 g Kohle geschüttelt, so wurden gefunden Hg mg-Äquivalente in 1 ccm

vor der Adsorption	nach der Adsorption	adsorbiert
0,1000	0,0467	0,0533

während von Chlor 0,0538 Äquivalente adsorbiert wurden.

Es konnte also auch im Falle des Sublimats, wie bei den früher untersuchten Salzen, eine vollkommene Äquivalenz bei der Adsorption des Anions und des Kations nachgewiesen werden.

Es war von Interesse, die Adsorption des Sublimats bei gleichzeitiger Anwesenheit von Chloriden und von Salzsäure zu untersuchen.

Die Versuche waren die folgenden:

		Kation
1.	100 ccm 0,1 Mol $HgCl_2$ wurden mit 5,000 g Kohle geschüttelt. Adsorbiert	0,0395 mg Äq./ccm
	100 ccm 0,05 Mol $HgCl_2$ mit 5,000 g Kohle geschüttelt. Adsorbiert .	0,0350 mg Äq./ccm
	5 ccm 0,1 Mol $HgCl_2$ + 50 ccm 1 Mol ClNa, mit 5,000 g Kohle geschüttelt. Adsorbiert	0,0128 mg Äq./ccm.
2.	100 ccm 0,050 Mol $HgCl_2$ mit 5,000 g Kohle geschüttelt. Adsorbiert .	0,0314 mg Äq./ccm
	50 ccm 0,1 Mol $HgCl_2$ + 50 ccm 0,1 Mol NaCl, mit 5,000 g Kohle geschüttelt. Adsorbiert	0,0269 mg Äq./ccm
	50 ccm 0,1 Mol $HgCl_2$ + 50 ccm 0,1 Mol $CaCl_2$, mit 5,000 g Kohle geschüttelt. Adsorbiert	0,0243 mg Äq./ccm
3.	100 ccm 0,05 Mol $HgCl_2$ mit 5,000 g Kohle geschüttelt. Adsorbiert .	0,0322 mg Äq./ccm
	50 ccm 0,1 Mol $HgCl_2$ + 50 ccm 0,1 Mol HCl, mit 5,000 g Kohle geschüttelt. Adsorbiert	0,0277 mg Äq./ccm

50 ccm 0,1 Mol $HgCl_2$ + 25 ccm
0,2 Mol HCl + 25 ccm 0,2 NaCl,
mit 5,000 g Kohle geschüttelt.
Adsorbiert . . . . 0,0235 mg Äq./ccm.

Es ergibt sich demnach, daß durch Bildung von Komplexsalzen mit den Anionen $HgCl_3'$, $HgCl_4''$ die Adsorbierbarkeit um ein bis zwei Drittel, bezogen auf den Adsorptionswert des reinen Sublimats, vermindert ist. Angesichts der stark verminderten toxischen (desinfektorischen) Wirkungen der Sublimat-NaCl-Verbindungen[1]), ist diese Tatsache sicher von Interesse. Es liegt hier ein gutes Beispiel eines Parallelismus zwischen Adsorptionsfähigkeit und physiologischer Wirkung vor[2]).

Die Verhältnisse, die wir bei den Silbersalzen gefunden haben, stehen mit den Befunden von Morawitz in Übereinstimmung, so daß wir auf diese verweisen können.

Stark, wenn auch weit geringer als beim Hg und Ag, ist auch die Adsorbierbarkeit des Ferriions. Kompliziert werden hier die Verhältnisse dadurch, daß das Ferriion durch die Kohle zu einem geringen Teil zu Ferroion reduziert wird. Immerhin mögen einige Versuche die Größenordnung der Adsorption illustrieren. Geschüttelt wurden stets 100 ccm einer Ferrisulfatlösung mit 15 g Kohle. Die Zahlen sind g-Atom Fe im Liter.

Vor der Adsorption	nach der Adsorption	adsorbiert
2,250	1,700	0,550
2,330	1,780	0,550
0,769	0,374	0,395

Was die beobachtete starke Adsorbierbarkeit des $Fe^{\cdot\cdot\cdot}$-, $Hg^{\cdot\cdot}$- und $Ag^{\cdot}$-Ions anlangt, so ist diese für das $Ag^{\cdot}$-Ion am leichtesten verständlich. Wie wir in unserer früheren Mitteilung zeigen konnten, wächst die Adsorbierbarkeit in derselben Reihe wie die elektrolytische Spannungsreihe. Es war zu erwarten, daß mit zunehmender Edelkeit des Metalls eine immer höher werdende Adsorbierbarkeit einhergehen wird[3]), die schließlich

[1]) Vgl. Paul und Krönig, Zeitschr. f. physikal. Chemie 24, 414, 1896; Zeitschr. f. Hygiene 25, 1, 1897.

[2]) Vgl. hierzu vor allem Morawitz, l. c.

[3]) Vgl. hierzu auch Höber, Physikal. Chemie der Zelle, S. 214, 4. Aufl., 1914.

die des H erreicht. Von den früher untersuchten Metallen war Cu das edelste und auch das bestadsorbierbare Metall, das aber hinter H zurückblieb. Mit dem Ag bewegen wir uns in derselben Größenordnung der Adsorbierbarkeit wie bei H. — Fragen wir, warum die Stelle des H-Ion in der Adsorptionsreihe so anders ist, wie in der elektrolytischen Spannungsreihe, so ist folgendes zu bedenken: In der elektrolytischen Spannungsreihe werden alle ionenliefernden Körper in Form ihres festen metallischen Zustandes gedacht, nur das H wird bezogen auf gasförmigen Wasserstoff unter dem Druck einer Atmosphäre. In der Adsorptionsreihe dagegen verschwinden die Unterschiede der Aggregatzustände. Daher die verschiedene Stellung des H in beiden Reihen. Wir können auch sagen, der Wasserstoff, im gasförmigen Zustande an der Grenze zwischen edlen und unedlen Metallen stehend, würde, im metallischen Zustande betrachtet, ein sehr edles Metall sein.

Was die Ionen $Fe^{\cdot\cdot\cdot}$ und $Hg^{\cdot\cdot}$ betrifft, so handelt es sich in beiden Fällen um höhere Oxydationsstufen, die in der elektrischen Spannungsreihe keinen Platz finden, weil sie gegen das zugehörige Metall überhaupt kein definiertes Potential zeigen, sondern zu einem chemischen Umsatz führen, ähnlich wie auch die Lösung eines Edelmetallsalzes gegen ein unedles Metall zu einem Umsatz führt. Ohne den tieferen Zusammenhang ganz durchschauen zu können, neigen wir dazu, anzunehmen, daß mit dieser Eigenschaft die auffällige Stellung dieser Ionen in der Adsorptionsreihe zusammenhängt.

Zusammenfassung.

1. Es wurde ein Verfahren angegeben, die Adsorbierbarkeit der $H^{\cdot}$- und OH-Ionen an Kohle „an sich“ — unabhängig von den sie begleitenden Anionen bzw. Kationen — zu messen,

2. $H^{\cdot}$ und OH' werden von der Kohle gleich stark adsorbiert.

3. Es wird die Adsorbierbarkeit der Salze einiger Schwermetalle an Kohle untersucht.

4. Die Adsorbierbarkeit des Sublimats an Kohle wird in Gegenwart von Chloriden bis um 60 % vermindert. Es besteht hier ein Parallelismus zwischen Adsorbierbarkeit und physiologischer Wirkung.

Über die Einwirkung von Carbonaten der alkalischen Erden auf Traubenzucker.

I.

Traubenzucker und Calciumcarbonat.

Von

Hans Murschhauser.

(Aus der akademischen Kinderklinik in Düsseldorf.)

(Eingegangen am 13. Juni 1919.)

Mit 1 Figur im Text.

Seitdem Lowitz[1]) im Jahre 1792 die Beobachtung gemacht hatte, daß Ätzkalk, die Alkalien und bei erhöhter Temperatur auch Ammoniak den Traubenzucker bräunen, ist die Einwirkung von Hydroxylionen auf Zuckerarten Gegenstand zahlreicher Untersuchungen geworden. Das in dieser Richtung am eingehendsten studierte Kohlenhydrat ist der Traubenzucker. Die Produkte, die aus der Einwirkung von Basen auf denselben resultieren, sind qualitativ und quantitativ von der Temperatur, der Reaktionsdauer und der Art und Konzentration der Base abhängig.

Als wichtigstes und interessantestes Ergebnis bei höherer Temperatur und starker Basenkonzentration dürfte die von Hoppe-Seyler[2]) beobachtete Milchsäurebildung anzusprechen sein. Geringere Basenkonzentrationen, wie sie bei Verwendung von Oxydhydraten der alkalischen Erden naturgemäß vorliegen, führten zur Auffindung der Saccharinsäuren und des Saccharins. Schließlich haben Lobry de Bruyn und van Ekenstein[3])

---

[1]) Crels Annal. **1**, 292.

[2]) B. B. **4**, 15, 1871.

[3]) Recueil des travaux chimiq. d. Pays-Bas **14**, 214.

gefunden, daß bei Gegenwart geringer Mengen von Basen eine Umwandlung eines Teiles der angewandten Dextrose in Lävulose und Mannose stattfindet. Das ist in allerkürzester Form das Wesentlichste, was über die Einwirkung von Basen auf Dextrose zu sagen ist.

Von einer physiologischen Fragestellung ausgehend, hatte ich neuerdings Veranlassung, mich mit der Einwirkung von Hydroxylionen auf Zuckerarten zu beschäftigen. Dabei sollte in erster Linie der Einfluß von Calciumhydroxyd auf Glucose eingehend untersucht werden. Es war beabsichtigt, den Kalk nach der Einwirkung der Komponenten aufeinander als Carbonat abzuscheiden; nun ist bekannt, daß zur Sicherung der quantitativen Abscheidung des Kalks zunächst ein Überschuß von Kohlensäure eingeleitet werden muß; dieser Überschuß bewirkt aber eine teilweise Lösung des bereits gefällten Carbonats zu Bicarbonat, aus dem das unlösliche Carbonat durch Kochen wieder zur Fällung gebracht wird. Ob dieses Kochen mit Calciumcarbonat irgendeinen Einfluß auf den noch unveränderten Traubenzucker haben könnte, ist noch niemals untersucht worden.

Es erschien mir deshalb von Wichtigkeit, diese Frage vor der ursprünglich gestellten abzuhandeln.

In Vorversuchen hatte ich bereits beobachtet, daß das Kochen von Traubenzuckerlösungen mit Calciumcarbonat zu einer Gelbfärbung des Gemisches führte, die mit der Dauer des Erhitzens an Intensität zunahm und durch die verschiedenen Übergangsnuancen schließlich in Rotbraun umschlug; ich hatte ferner festgestellt, daß unter den gegebenen Verhältnissen die ursprüngliche Drehung der Traubenzuckerlösung zurückging, ohne daß dabei das Reduktionsvermögen derselben verringert worden wäre und zog aus dieser Kombination von Erscheinungen den Schluß, daß das Calciumcarbonat eine Umwandlung des Traubenzuckers im Sinne der Lobry de Bruynschen Umlagerung bedingen müßte. Da es sich beim Calciumcarbonat um einen nahezu unlöslichen Stoff handelt, so dünkte mir die systematische Bearbeitung des Kapitels lohnenswert.

Die Untersuchung wurde zunächst beschränkt auf die Änderung der Drehung der Polarisationsebene einer Trauben-

zuckerlösung unter dem Einfluß von Calciumcarbonat[1]). In späteren Versuchen wurde die optische Analyse durch die quantitative Bestimmung des Reduktionsvermögens und der Gärfähigkeit ergänzt.

Experimenteller Teil.

Als Ausgangsmaterial diente mir eine Glucose, die von Merck stammte, als Traubenzucker puriss. wasserfrei bezeichnet war und ein rein weißes, sehr voluminöses Pulver darstellte; für die zunächst zu beschreibenden Versuche verwendete ich ein Calc. carbonicum, das vor 1914 als Pharmakopöe-Präparat von Kahlbaum geliefert worden war; es entsprach hinsichtlich seiner Reinheit den Anforderungen des deutschen Arzneibuches.

Das molekulare Verhältnis zwischen Traubenzucker und Calciumcarbonat ist ungefähr 180 : 100. Ganz willkürlich wählte ich dieses Verhältnis zur Grundlage unserer Untersuchungen. Wir gingen dabei stets von einer Lösung aus, die durch Auflösen von 20 g Traubenzucker zu 100 ccm destillierten Wassers erhalten worden war und deren Gehalt an Dextrose nach Aufhebung der Multirotation durch mindestens 24 stündiges Stehenlassen kontrolliert worden war. Um diese Gehaltsprüfung in völlige Übereinstimmung mit den späteren Versuchsbedingungen zu bringen und um die durch Konzentrationsunterschiede etwa bedingte Verschiedenheit in der Polarisation auszuschalten, verfuhren wir dabei so, daß wir je 25 ccm der Traubenzuckerlösung mit destilliertem Wasser auf 100 ccm verdünnten; in dieser Verdünnung wurde der Gehalt an Glucose durch Polarisation und Wägung des aus Fehlingscher Lösung nach der Pflügerschen Modifikation abgeschiedenen Kupferoxyduls eruiert. Wiederholte Bestimmungen ergaben nach beiden Methoden regelmäßig einen Gehalt dieser Verdünnung an Dextrose von 4,9 $^0/_0$, so daß die Urlösung, von der wir bei allen Versuchen ausgegangen sind, 19,6 $^0/_0$ Dextrose enthielt. Zu den Versuchen dienten je 25 ccm der Urlösung,

---

[1]) Die experimentelle Bearbeitung ist unter teilweiser Mitwirkung von W. Wintz erfolgt.

entsprechend 4,9 g Dextrose. An Stelle der dem molekularen Verhältnis entsprechenden Menge von 2,7 g setzten wir der Lösung je 3 g Calciumcarbonat zu und verdünnten die Mischung, da sie für Kochversuche zu dickbreiig war, noch mit 20 ccm destilliertem Wasser.

Sämtliche Reaktionen, die im folgenden beschrieben sind, vollziehen sich demnach in 10,9%igen Dextroselösungen, die in den meisten Fällen etwas mehr Calciumcarbonat enthalten, als dem molekularen Verhältnis zwischen beiden entspricht. Da nach vollzogener Reaktion jedesmal eine Verdünnung der Mischung von 45 auf 100 ccm vorgenommen wurde, so beziehen sich die in den einzelnen Serien angegebenen Zahlen auf die Basis 4,9% Dextrose.

Die Abscheidung des Kalks aus dem Bicarbonat hatte in den beabsichtigten Versuchen mit Calciumhydroxyd in der Siedehitze zu erfolgen. Es sollte deshalb zuerst durch Vorversuche entschieden werden, ob die Erhitzung über freier Flamme während einer bestimmten Zeit eine Konstanz der Resultate gewährleiste oder ob eine ungleichmäßig starke Erhitzung, mit der namentlich unter den gegenwärtigen politischen Verhältnissen bei dem Wechsel in der Gasversorgung während verschiedener Tage, ja verschiedener Tageszeiten gerechnet werden mußte, die Resultate so beeinflusse, daß es zweckmäßiger erschien, die experimentelle Bearbeitung der vorliegenden Frage durch Erhitzung der Versuchsmischung im kochenden Wasserbade, also bei gesicherter konstanter, wenn auch niedrigerer Temperatur vorzunehmen.

Zur Entscheidung dieser Frage wurde unter den oben angegebenen Bedingungen das Calciumcarbonat pharm. mit der Dextroselösung in der einen Versuchsserie über freier Flamme auf dem Drahtnetz gekocht, in der anderen durch Versenken des Kolbens in ein kochendes Wasserbad erhitzt; die Erhitzung wurde in der ersten Serie auf 10, in der zweiten auf 30 Minuten ausgedehnt; nach dem Auffüllen auf 100 ccm und Abfiltrieren des Calciumcarbonats wurde die Lösung polarisiert. Die Polarisation erfolgte im Mitscherlichschen Polarisationsapparate, der bei Verwendung eines 190 mm-Rohres die Prozente Dextrose direkt anzeigt.

Die Ergebnisse sind zusammengestellt in

Tabelle I.

	Über freier Flamme 10 Min. gekocht.	Im kochenden Wasserbade 30 Min.
% Dextrose	2,2	2,7
	2,0	2,45
	2,1	2,3
	2,1	2,45

Wie aus der Tabelle ersichtlich, übt das Kochen über freier Flamme eine weit intensivere Wirkung auf den Zucker aus als die Erhitzung im kochenden Wasserbade; denn während die Drehung im ersten Falle in **10** Minuten von 4,9 auf 2,1 % heruntergegangen war, ist sie bei 100° innerhalb **30** Minuten nur auf 2,45 % gefallen. Die Tabelle zeigt ferner, daß Schwankungen, die bei Kontrollversuchen eintreten können, bei beiden Erhitzungsmethoden möglich, jedoch so gering sind, daß sie für die vorliegende Frage keine Rolle spielen.

Die erzielte bessere Übereinstimmung der Proben beim Kochen über freier Flamme ermöglichte es uns also, den Vorgang bei der Einwirkung von Calciumcarbonat auf Dextrose unter Bedingungen zu studieren, wie sie bei der Abscheidung des Kalks in den Versuchen mit Calciumhydroxyd eingehalten werden mußten; der einzige Unterschied in den Bedingungen zwischen jenen und diesen Versuchen besteht nur noch in der Abwesenheit von Bicarbonat; doch soll diese Frage später für sich behandelt werden.

Versuche mit Calciumcarbonat pharm. G. IV.

Festes Calciumcarbonat beim Kochen mit Dextroselösung.

Das zu den folgenden Versuchen verwendete Präparat war ein Calciumcarbonat pharm. G. IV., von Kahlbaum und vor 1914 geliefert; der Traubenzucker ein Mercksches „purissimum wasserfrei"-Präparat.

In der ersten Versuchsreihe wurde der Einfluß der Kochdauer auf die Veränderung der Drehung einer Traubenzuckerlösung durch Calciumcarbonat studiert. Zu diesem Zwecke wurden je 3 g Calciumcarbonat mit je 25 ccm 19,6 %iger Dextroselösung und 20 ccm Wasser in weithalsigen Kolben

von 200 ccm vermischt und am Rückflußkühler über freier Flamme wechselnde Zeiten gekocht. Dann wurde rasch abgekühlt, mit destilliertem Wasser, auf 100 ccm aufgefüllt, abfiltriert und das Filtrat polarisiert; die Kochdauer ist vom Beginn des Kochens an gerechnet.

Das Ergebnis ist in Tabelle II und Figur 1 zusammengefaßt.

Tabelle II.

Originallösung 4,9 % D.

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Kochdauer in Min.	Erhitzt bis z. beg. Kochen	5	10	15	20	30	45	60	120	180
Drehung %	4,6	2,9	2,0	1,4	1,0	0,6	+ 0,1	0	0	— 0,3
Die noch besteh. Dreh. in % der urspr. $= \frac{100 \cdot x}{4,9}$, wobei $x =$ die beobachtete Drehung	93,9	59,2	41,0	28,5	20,4	12,0	2,0	0	0	— 6,0

Während die ursprüngliche Zuckerlösung farblos ist, zeigen die Filtrate dieser Reihe eine Gelbfärbung, die mit fortschreitender Kochdauer intensiver wird und schließlich in Rotbraun übergeht; von V ab waren die Lösungen bereits so dunkel gefärbt, daß eine genaue Ablesung im 190 mm-Rohre ohne vorherige Aufhellung, die mit einer geringen Menge krystallisierter Oxalsäure erzielt wurde, nicht mehr möglich war. Die Ablesungen der mit Oxalsäure versetzten Lösungen wurden zur Feststellung eines etwaigen Einflusses der Säure auf die Drehung durch solche ohne den Säurezusatz im 95 mm-Rohre kontrolliert, und dabei ermittelt, daß der Säurezusatz keine Änderung der Drehung verursachte; es braucht kaum erwähnt zu werden, daß die durch Oxalsäure etwa gebildeten Niederschläge, vor der Polarisation abfiltriert wurden.

Mit der Zunahme der Farbintensität ging parallel eine Abnahme der Drehung. Nach Verlauf von 60 Minuten ist dieselbe 0, nach 3 Stunden liegt eine schwache Linksdrehung vor, die einer 0,3 %igen Dextroselösung entspricht. Beim Eintragen der Zahlen in ein Koordinatensystem erhält man eine anfänglich sehr steil abfallende Kurve, die nach 45 Minuten in die Horizontale übergeht.

Um die Wirkung des praktisch als unlöslich geltenden Calciumcarbonats mit der von löslichen Hydroxyden vergleichen zu können, sei angeführt, daß Lobry de Bruyn und van Ekenstein bei Verwendung von 100 g Glucose und 30 g Calciumoxyd (molek. Verhältnis 1 : 1) bei 18 bis 25° den Nullpunkt in 24 Stunden erreichten; war die Temperatur 70°, so ging die Drehung schon nach 4 Stunden auf $\alpha_D = -0{,}6°$ zurück. Bei Anwendung von 4 g Dextrose, 2 g Calciumoxyd (molek. Verh. 1 : 1,7) und einer Temperatur von 100° war nach $^1/_4$ Stunde die Drehung auf $\alpha_D = -1{,}0°$ zurückgegangen. Die Ungleichheit der Versuchsbedingungen läßt keinen direkten Vergleich zu; die Lobry de Bruynschen Zahlen sollten nur angeführt werden, um mangels geeigneterer irgendeinen Konnex zwischen unseren Resultaten und der bestehenden Literatur zu schaffen; immerhin geht aus einem Vergleich der Ergebnisse hervor, daß das Calciumcarbonat die optische Aktivität des Traubenzuckers wesentlich schwächer beeinflußt als die Hydroxyde alkalischer Erden.

Nach den Ergebnissen ist anzunehmen, daß hier eine Erscheinung vorliegt, wie sie Lobry de Bruyn und van Ekenstein für die Hydroxyde der Alkalien und alkalischen Erden, sowie für die Carbonate der Alkalien gefunden hat. Der Rückgang der Drehung ist nach dem oben Mitgeteilten auf einen teilweisen Übergang der rechtsdrehenden Dextrose in die linksdrehende Lävulose und die schwach rechtsdrehende Mannose zurückzuführen; da die beiden letztgenannten Zucker dieselben Reaktionen zeigen wie die Dextrose, so müssen selbst in den Fällen, wo die Drehung verschwunden ist, also scheinbar kein Zucker mehr vorliegt, die qualitativen Eigenschaften der Zucker noch vorhanden sein. In unserem Falle wurde der Beweis für die Gegenwart von Zuckern in den Lösungen VI—X mit je einem Tropfen der Lösung erbracht. Sämtliche Lösungen gaben mit Fehlingscher Lösung starke Reduktion, mit Hefe lebhafte Gärung, mit Phenylhydrazin reichlich Osazon. Damit dürfte auch ohne den direkten Nachweis von Lävulose die Umwandlung von Dextrose in Lävulose und evtl. andere Zucker gewährleistet sein.

Verschiedene Beobachtungen, vor allem die Tatsache, daß der größte Teil des angewandten Calciumcarbonats beim Kochen

unverändert geblieben war, brachte uns auf den Gedanken, daß auch wesentlich geringere Mengen von Calciumcarbonat hinreichen würden, die erwähnte Reaktion auszulösen. Es wurden deshalb unter sonst gleichen Bedingungen neue Versuchsreihen unter Variation der angewandten Calciumcarbonatmengen ausgeführt. Die Ergebnisse sind mit denen der ersten Versuchsreihe in der folgenden Tabelle wiedergegeben; Originalglucoselösung 4,9 %.

Tabelle III.

		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Kochdauer in Min. mit		Erhitzt b. z. beg. Koch.	5	10	15	20	30	45	60	120	180
$3\,g\,CaCO_3$	Drehung %	4,6	2,9	2,0	1,4	1,0	0,6	0,1	0	0	—0,3
0,6 g „	Drehung %	—	2,7	—	—	1,35	1,0	—	0,55	0,2	0,1
0,3 g „	Drehung %	4,7	2,9	2,1	—	1,5	1,2	1,05	0,8	0,35	0,1
0,1 g „	Drehung %	4,75	3,5	2,8	2,75	2,4	2,1	1,8	1,4	0,7	0,4
Die noch besteh. Dreh. im Verhält. zur ursp.: $\frac{100 \cdot x}{4,9}$, wobei x = die beobacht. Drehung (für $0,1\,g\,CaCO_3$)		97	72	57	56	49	43	37	29	14	8

Danach rufen auch wesentlich geringere Mengen von Calciumcarbonat (bis zu $^1/_{30}$ Mol) dieselben Erscheinungen hervor, wie 3 g. Die Reaktionsgeschwindigkeit ist allerdings etwas verlangsamt, aber durchaus nicht proportional der Abnahme des Calciumcarbonats. Greifen wir die Längsspalte VIII aus der Tabelle heraus, so ergeben sich durch Berechnung folgende Verhältnisse:

$CaCO_3$ g	Mol-Verhältnis Dextr.: $CaCO_3$ ca.	Drehung %	prozentuale Abnahme d. Drehung
3,0	1 : 1	0	100
0,6	5 : 1	0,55	88
0,3	10 : 1	0,8	44
0,1	30 : 1	1,4	71

Im extremsten Falle entspricht einer Reduktion des Calciumcarbonatmoleküls auf $^1/_{30}$ Mol eine Änderung der prozentualen Abnahme der Drehung um nur ca. $^1/_3$.

In der Lösung der Vertikalspalte VIII der letzten, bzw. vorletzten Horizontalreihe ($0,1\,g\,CaCO_3$) wurde eine quantitative Bestimmung von reduzierendem Zucker mit Fehlingscher Lö-

sung nach der modifizierten Methode von Pflüger ausgeführt und aus dem gewogenen Kupferoxydul ein Zuckergehalt von 4,6 % ermittelt. Die Differenz zwischen der optischen Drehung und der durch Reduktion gefundenen Zuckermenge ist beweisend für die Umwandlung der Dextrose in Lävulose.

Calciumcarbonat wird mit Dextroselösung geschüttelt, das Filtrat davon gekocht.

Nun war selbst bei Anwendung von nur 0,1 g $CaCO_3$ nach dreistündigem Kochen noch unverändertes Carbonat in der Flüssigkeit suspendiert geblieben; das brachte mich auf den Gedanken, daß es nicht das ungelöste Calciumcarbonat sein kann, das die Reaktion zustande bringt, sondern daß Glucoselösungen imstande seien, geringe Mengen von Calciumcarbonat zu lösen, und daß dieser gelöste Teil beim Kochen zu der Umwandlung führe. Die Vermutung sollte durch den Versuch geklärt werden. Dabei ging ich so vor, daß ich $x \cdot 3$ g $CaCO_3$ mit $x \cdot 25$ ccm 19,6 % Dextroselösung und $x \cdot 20$ ccm H_2O vermischte und unter häufigem Umschütteln zwei Stunden stehen ließ; je 45 ccm der vom $CaCO_3$ abfiltrierten Flüssigkeit wurden gekocht, auf 100 ccm aufgefüllt, polarisiert.

Aus den in Tabelle IV wiedergegebenen Zahlen geht hervor:

Tabelle IV.

	I	II	III	IV	V	VI
Kochdauer i. Min. .	erhitzt bis z. beg. Kochen	5	10	15	20	120
Drehung entspr. % Dextrose .	4,25	2,7	2,2	2,1	2,0	1,9

daß auch beim Kochen einer mit Calciumcarbonat vorbehandelten und nachher durch Filtration wieder davon befreiten Dextroselösung eine anfänglich ebenso rasch vor sich gehende Drehungsabnahme stattfindet, wie beim Kochen einer Dextroselösung gleicher Konzentration mit 3 g suspendiertem Calciumcarbonat.

Der in destilliertem Wasser lösliche Anteil von Calciumcarbonat wird mit Dextrose gekocht.

Die Abnahme der Drehung unter den eben erwähnten Umständen besagt uns, daß es der gelöste Anteil des Calciumcarbonats sein muß, der die Reaktion vollzieht. Sie ist aber

durchaus kein Beweis dafür, daß der Zucker das lösende Agens für den Kalk darstellt. Nun gilt Calciumcarbonat als ein in Wasser praktisch unlöslicher Stoff. Wir haben aber mit der Entwicklung der physikalischen Chemie in den letzten Jahrzehnten aufgehört, Körper, die uns bei Reaktionen als unlösliche Niederschläge entgegentreten, als absolut unlöslich zu betrachten. So ist das Calciumcarbonat, wenn auch sehr wenig, so doch immerhin in reinem Wasser löslich. Nach den Untersuchungen von Schlösing[1]) und andererseits Bineau ist der Gleichgewichtszustand zwischen Wasser und Calciumcarbonat für 100 ccm Wasser $= 1{,}31 \times 10^{-3}$. Da mir Zahlen über die Löslichkeit des Calciumcarbonats in Dextroselösungen nicht bekannt wurden, so bestand für mich immer noch die Möglichkeit, daß der in destilliertem Wasser lösliche geringe Anteil von $CaCO_3$ genüge, um die Umwandlung der Dextrose beim Kochen zu vollziehen. Zu dieser Möglichkeit gesellt sich eine weitere, daß nämlich die Traubenzuckerlösung an sich beim Kochen eine Abnahme der Drehung erfahre. Ein in diesem Sinne angestellter Blindversuch mit dem eingangs besprochenen Traubenzucker von Merck beseitigte diese Bedenken; denn beim Kochen von 25 ccm der 19,6%igen Dextroselösung mit 20 ccm Wasser während $^1/_2$ Stunde blieb die Drehung normal.

Zur Beantwortung der Frage, ob der in Wasser lösliche geringe Anteil des Calciumcarbonats genüge, die Umwandlung des Traubenzuckers herbeizuführen, suspendierte ich $x \cdot 3$ g $CaCO_3$ in $x \cdot 45$ ccm destilliertem Wasser und ließ unter häufigem Umschütteln 20 Stunden bei Zimmertemperatur stehen; dann wurde abfiltriert und die entsprechende Menge Dextrose zugefügt. Die Lösung blieb zur Aufhebung der Birotation 24 Stunden stehen und wurde dann polarisiert. Polarisation 9,75% Dextrose; nun wurden je 50 ccm (= 4,9 g Dextrose) wechselnde Zeiten gekocht, auf 100 aufgefüllt, polarisiert.

Die Ergebnisse sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt

Tabelle V.

	I	II	III	IV	V
Kochdauer in Min. . .	erhitzt bis z. beg. Kochen	5	15	30	60
Drehung entspr. % Dextrose	4,7	3,25	2,8	2,7	2,6

[1]) Compt. rend. 74, 1552.

und sollen summarisch mit einigen andern bisher beschriebenen, in einer weiteren Tabelle VI und einer Kurventafel (Fig. 1) zusammengestellt und diskutiert werden.

Tabelle VI.

		I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X
Kochdauer in Min.		erhitzt bis z. beg. Kochen	5	10	15	20	30	45	60	120	180
Drehung entspr. % Dextrose	A	4,6	2,9	2,0	1,4	1,0	0,6	0,1	0	0	—0,3
	B	4,75	3,5	2,8	2,75	2,4	2,1	1,8	1,4	0,7	+0,4
	C	4,25	2,7	2,2	2,1	2,0	—	—	—	+1,9	—
	D	4,7	3,25	—	2,8	—	2,7	—	2,6	—	—

A. Kochen von Dextroselösung mit 3 g $CaCO_3$.

B. „ „ „ „ 0,1 g $CaCO_3$.

C. Kochen des Filtrats von der Ausschüttelung der Dextroselösung mit 3 g $CaCO_3$.

D. Der in Wasser (dest.) lösliche Anteil von $CaCO_3$ mit Dextrose gekocht.

Aus den Zahlen der Versuchsreihe D geht hervor, daß die minimalen Mengen des in destilliertem Wasser löslichen Anteiles von Calciumcarbonat hinreichen, um die ursprüngliche Drehung der Dextroselösung zu reduzieren; die Abnahme der Drehung beginnt bereits beim Kochpunkt; sie beträgt hier 4%, nach 5 Minuten Kochdauer 34, nach 15 Minuten 43, nach 60 Minuten 47%, geht also nach 1 Stunde bis auf die Hälfte des Anfangswertes zurück.

Ein Vergleich zwischen den Zahlen von C und D führt uns zu der Annahme, daß Calciumcarbonat in Glucoselösungen etwas mehr löslich sein muß als in reinem Wasser; denn der Rückgang der Drehung in C erfolgt rascher und weiter als in D. Die Zahlen von C und D, sowie die aus ihnen konstruierten Kurven zeigen übrigens die gemeinsame Eigenschaft, daß sie nach einem anfänglich sehr steilen Abfall bald nahezu konstant werden bzw. in die Horizontale übergehen; dieser Übergang tritt bei D vermutlich infolge des geringeren Kalkgehaltes der Lösung etwas früher ein als in C. Sie unterscheiden sich dadurch wesentlich von den Zahlen und Kurven A und B, aus denen ein dauerndes Streben nach der Nullinie deutlich hervorgeht; ist

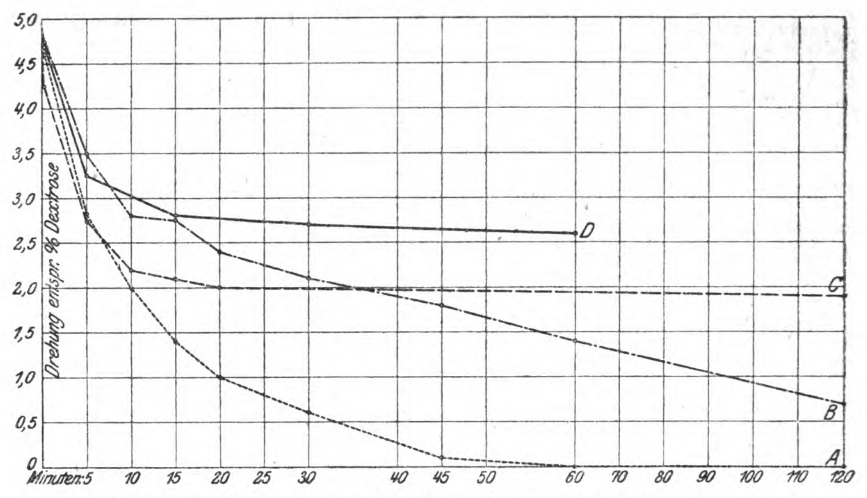


Fig. 1. Calciumcarbonat der Pharmakopöe mit Dextroselösung.
A Dextroselösung mit 3 g $CaCO_3$ gekocht.
B Dextroselösung mit 0,1 g $CaCO_3$ gekocht.
C Der in Dextroselösung lösliche Anteil von $CaCO_3$ gekocht;
D der in dest. Wasser lösliche Anteil von $CaCO_3$ mit Dextrose gekocht.

die Nullinie erreicht, dann verläuft auch hier die Kurve nahezu horizontal. Wenn auch bei B der Versuch nicht bis zu diesem Punkte durchgeführt ist, so ist die Tendenz nicht zu verkennen.

Der Unterschied in dem Verhalten der Linienpaare C und D einerseits, der von A und B andererseits erweckt den Eindruck, als ob die in C und D vorhandenen Kalkmengen zur Erreichung der Nullinie ungenügend und bei den Punkten, wo die Kurven in die Horinzontale übergehen, erschöpft waren. Der experimentelle Beweis für diese Annahme wurde folgendermaßen geführt:

3 g Calciumcarbonat wurden mit 25 ccm 19,6 %iger Dextroselösung und 20 ccm Wasser 30 Minuten im kochenden Wasserbade erhitzt, auf 100 ccm ergänzt, vom $CaCO_3$ abfiltriert; das Filtrat polarisiert = 2,7 % Dextrose (Orgl. = 4,9 %).

Dieses Filtrat I ergab beim weiteren Kochen

nach 30 Min. eine Drehung entspr. 1,8 % D
" 60 " " " " 1,7 % D
" 90 " " " " 1,7 % D.

Die Drehungsabnahme war sistiert; nun wurden neuerdings 0,3 g $CaCO_3$ zugegeben und 30 Minuten gekocht; die Ablesung ergab jetzt eine Drehung des Filtrats (II) von den 0,3 g $CaCO_3$ von 0,8 %; der vorerst sistierte Rückgang der Drehung war durch den Zusatz neuen Carbonats aktiviert worden, ein Beweis dafür, daß beim fortgesetzten Kochen des Filtrates I das $CaCO_3$ irgendwie verbraucht worden war. Wurde nunmehr das Filtrat II 30 Minuten gekocht, so trat eine weitere Depression der Drehung auf + 0,2 % ein, die beim ferneren Kochen sistierte. Neue Mengen von $CaCO_3$ führten zum Rückgang der Drehung auf Null.

Der fortlaufende Abfall von A und B bis zur Nullinie muß danach so erklärt werden, daß der ursprünglich in Lösung befindliche Teil des Calciumcarbonats beim Kochen die Umwandlung der Glucose einleitet; dabei wird ein kleiner Teil der Glucose in Säure (vermutlich Saccharinsäure) verwandelt, die den gelösten Kalk bindet; es gehen nunmehr neue Mengen Calciumcarbonat nach Maßgabe ihrer Löslichkeit in dem neuen Milieu in Lösung und führen die begonnene Zuckerumwandlung weiter.

Wenn der Beweis hinsichtlich der Säurebildung bis jetzt nicht erbracht ist, so spricht doch die bereits festgestellte Tatsache für die Hypothese, daß die nach kurzer Erhitzungsdauer erhaltenen Lösungen auf Zusatz von Oxalsäure keine Trübung zeigen, während nach längerer Kochdauer Niederschläge auftreten, deren Menge mit der Kochzeit zunimmt; der erhöhte Kalkgehalt der Lösung deutet auf vermehrte Säure hin.

Anteilnahme des Luftsauerstoffs an der Reaktion zwischen Dextroselösungen und Calciumcarbonat.

Man begegnet in den Abhandlungen über die Einwirkung von Basen auf Zuckerarten sehr häufig Bemerkungen, daß der Luftsauerstoff an der Reaktion teilgenommen hat, und daß bei Abwesenheit von Luft andere Stoffe entstehen als bei deren Gegenwart. Ich habe auch diesen Punkt berücksichtigt, um in dem besonderen Falle der Einwirkung minimaler und vermutlich dauernd gleichmäßig dosierter Hydroxylionenkonzentrationen zu entscheiden, ob der Luftsauerstoff an der Reaktion einen erkennbaren Anteil nimmt. Ich leitete deshalb durch

das Gemisch von Calciumcarbonat und Dextroselösung Luft mit einer solchen Geschwindigkeit, daß die durchgehenden Blasen eben noch zu zählen waren, und forcierte dabei die Erhitzung so, daß die Flüssigkeit nicht aus dem Kochen kam. Die Versuchsanordnung war im übrigen dieselbe wie oben. Das Resultat war folgendes:

Tabelle VII.

	I	II	III	IV	V
Kochdauer in Min.	2	10	30	45	60
Drehg. entspr. $^0/_0$ Dextrose	3,8	2,2	1,0	0,5	0,3

Ein etwaiger Einfluß der Luft mußte dadurch zum Ausdruck kommen, daß der Rückgang der Drehung rascher erfolgte, als in den früheren Versuchen; das ist aber nicht der Fall; im Gegenteil, die Abnahme war verlangsamt. Die einzige Erklärung hierfür liegt in der Wahrscheinlichkeit, daß die durchziehende Luft die Flüssigkeit abkühlte. Um diese Vermutung durch den Versuch zu bestätigen, brauchten wir nur entweder einen stärkeren Luftstrom durch die Flüssigkeit zu saugen oder aber wir bedienten uns vorgeheizter Luft. Im ersteren Falle müssen höhere Zahlen erhalten werden, d. h. die Reduktion der Drehung muß geringer sein als in Tabelle VII, im letzteren Falle müssen sich die Zahlen denen der Tabelle II nähern.

Tabelle VIII

gibt beide Versuchsreihen wieder.

		I	II	III	IV
Kochdauer in Min.		10	30	45	60
Drehung entspr. $^0/_0$ Dextrose	A . . .	—	1,85	—	1,35
	B . . .	2,2	—	0,6	0,3

A mit rasch durchziehender kalter Luft.

B mit vorgeheizter Luft von 70°.

Die Bestätigung für unsere Vermutung dürfte damit erbracht sein; wenn die Zahlen von B nicht niedriger ausgefallen sind, so liegt das vielleicht an dem noch zu rasch gewählten Luftstrom, der auch mit 70° Temperatur auf eine Flüssigkeit von über 100° abkühlend wirken kann.

Die Frage der Anteilnahme des Luftsauerstoffs war damit nicht abgeschlossen, da die Erhitzung in den früheren Versuchen gar nicht bei direktem Luftabschluß erfolgt war. Zur

Beseitigung dieses Einwands mußte die Erhitzung im Vakuum oder in einem indifferenten Gas vorgenommen werden.

Wir leiteten deshalb einen Wasserstoffstrom durch die kochende Flüssigkeit und erzielten folgende Resultate:

Tabelle IX.

	I	II	III	IV	V
Kochdauer in Min. . . .	2	5	10	30	60
Drehung entsprechend % Dextrose	3,8	3,15	2,15	0,9	0,1,

nach denen die Anteilnahme des Luftsauerstoffs an der Reaktion zwischen Calciumcarbonat und Dextroselösungen unter den von uns gewählten Bedingungen negiert werden dürfte.

Ohne auf die diesbezügliche Literatur einzugehen, geben uns unsere Befunde Veranlassung zu dem Schlusse, daß in allen Fällen, wo die Alkalikonzentration so gering ist, daß die Einwirkung von Hydroxylionen auf Glucose nur zu anderen Zuckerarten oder zu den den Hexosen metameren Saccharinsäuren führt, von einer Oxydationswirkung durch die Luft keine Rede sein kann. Ja, wir sind sogar geneigt anzunehmen, daß auch die Bildung der den einfachen Zuckerarten polymeren Milchsäure ohne die Einwirkung von Sauerstoff vor sich geht.

Einwirkung von Calciumcarbonat auf Dextroselösungen in der Kälte.

Bei der Empfindlichkeit von Traubenzuckerlösungen gegen Hydroxylionen erschien es nicht unwahrscheinlich, daß eine Beeinflussung der Drehung durch Calciumcarbonat schon in der Kälte erfolge. Um dies festzustellen, wurde eine Anzahl Kölbchen mit je 3 g Calciumcarbonat, 25 ccm 19,6%ige Dextroselösung und 20 ccm Wasser beschickt und unter zeitweiligem Umschütteln bei Zimmertemperatur verschlossen aufbewahrt. Nach Ablauf bestimmter Zeiten wurde mit destilliertem Wasser auf 100 ccm aufgefüllt, filtriert und polarisiert.

Aus der Versuchsreihe X

	I	II	III	IV	V Kontr. ohne $CaCO_3$
Dauer der Einwirkung (Stdn.) . .	5	24	4 × 24	21 × 24	21 × 24
Drehung entsprech. % Dextrose . .	4,9	4,9	4,8	4,6	4,9

ist zu entnehmen, daß die Drehung des Traubenzuckers durch den Einfluß von $CaCO_3$ in der Kälte innerhalb 21 Tagen nur in sehr geringem Grade reduziert wurde; eine durch Monate aufzubewahrende Probe wird weitere Aufklärung verschaffen.

Zusammenfassung.

1. Kocht man Traubenzuckerlösungen mit Calciumcarbonat, so tritt eine Verminderung der optischen Drehung ein; bei fortgesetztem Kochen wird die Drehung schließlich aufgehoben oder geht sogar in Linksdrehung über.

2. Die Drehungsabnahme verläuft nicht proportional der Kochdauer, sondern ist anfänglich prozentual viel stärker als in späteren Zeitabschnitten.

3. Gleichzeitig findet eine Verminderung des Reduktionsvermögens der erhaltenen Lösungen gegenüber Fehlingscher Lösung statt; diese Verminderung ist viel geringer als die Drehungsabnahme.

4. Es ist der in destilliertem Wasser lösliche Anteil des Calciumcarbonats, der die Reaktion vollzieht; das kommt dadurch zum Ausdruck, daß der wäßrige Auszug von Calciumcarbonat mit Dextrose dieselben Erscheinungen hervorruft.

5. In dem wäßrigen Auszug von Calciumcarbonat wird die Drehung nach einer anfänglichen Reduktion bald nahezu konstant, weil die Base durch Bindung an gebildete Säure beseitigt wird.

6. Die Erscheinung der Drehungsabnahme ist durch den Übergang von Dextrose in Lävulose und evtl. andere links- oder schwach rechtsdrehende Zuckerarten unter dem Einfluß von Hydroxylionen zu erklären.

7. Der fortwährende Rückgang der Drehung beim Erhitzen von Dextroselösung mit festem Calciumcarbonat muß so gedeutet werden: Nachdem der ursprünglich in Lösung befindliche Teil von Calciumcarbonat beim Kochen die Umwandlung von Dextrose eingeleitet hat und die Base durch Bindung an gebildete Säure weggeschafft ist, gehen neue Moleküle von Calciumcarbonat nach Maßgabe ihrer Löslichkeit in dem neuen Milieu in Lösung und führen die begonnene Zuckerumwandlung in demselben Sinne fort.

Über den Verlauf der Harnstoffspaltung durch Urease

Von

H. v. Euler und G. Brandting.

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Hochschule Stockholm.)

(Eingegangen am 2. Juli 1919.)

Mit 2 Figuren im Text.

Vor einiger Zeit ist Herr J. Temminck Groll[1]) auf Grund einer Reihe von Versuchen an Urease aus Sojabohnen zum Ergebnis gelangt, daß die Wirksamkeit der gelösten Urease nicht nach dem Gesetz für monomolekulare Reaktionen oder nach einem anderen einfachen Zeitgesetz abnimmt, sondern daß die Kurve, welche die Abnahme der Wirksamkeit des Enzyms mit der Zeit darstellt, einer Sinusoide gleicht.

Aus seinen Versuchen an Soja-Urease, sowie aus Versuchen von Frl. de Jonge an Lipase[2]) und Herrn de Bruyne an Ptyalin schließt Herr Groll folgendes:

„Während der Selbstzersetzung von Fermentlösungen spielen sich zwei Phänomene gleichzeitig ab:

1. Eine irreversible chemische Zersetzung, welche (meist, bei Ptyalin aber nicht) monomolekular verläuft und die wir am deutlichsten wahrnehmen bei der Zersetzung der Urease bei höheren Temperaturen (65°).

2. Eine abwechselnde Zunahme und Abnahme der Stärke der jederzeit noch anwesenden Fermentmenge, welche einer Sinusoide folgt.

Diese Phänomene sehen wir am deutlichsten bei niederen Temperaturen (z. B. Urease bei 35°).

---

[1]) J. T. Groll, Kolloid-Zeitschr. 21, 138, 1917.

[2]) J. A. de Jonge, Arch. Néerl. de Physiol. 1, 182, 1917.

Die Resultate der beiden Linien (Sinusoide und monomolekulare Kurve) sehen wir bei Urease bei dazwischen gelegenen Temperaturen (45°, 55°).

Bei diesen Fermenten haben wir also ein Beispiel einer periodischen Erscheinung, welche nicht direkt gebunden ist am Lebensprozeß einer pflanzlichen oder tierischen Zelle."

Am Schluß einer theoretischen Erörterung wird dann als wahrscheinlich angenommen,

„daß die genannten bei Fermenten und Kolloiden vorkommenden periodischen Erscheinungen zurückzuführen sind auf periodische Dispersitätsänderungen . . .".

Schon in Rücksicht auf diese Schlüsse von so weitreichender Art haben wir es für notwendig erachtet, dieser Angelegenheit unsere Aufmerksamkeit zuzuwenden, um so mehr, als zahlreiche experimentelle Befunde sowohl aus dem hiesigen Laboratorium als auch frühere von Arrhenius, Madsen, Tammann u. a. mit den Angaben von Groll schwer in Einklang zu bringen sind.

Wir haben uns also zunächst durch eigene Versuche eine Auffassung von dem Verlauf der Harnstoffspaltung durch Soja-Urease und von den Veränderungen der gelösten Urease bilden wollen, und deswegen selbst eine diesbezügliche eingehende Untersuchung angestellt, über welche nun zunächst berichtet werden soll.

Wir haben uns dabei soviel als möglich an die von van Slyke angegebene, von Groll angewandte Arbeitsweise gehalten.

1. Versuche.

Die Enzymlösung wurde in folgender Weise bereitet: Die Sojabohnen wurden gemahlen und mit der fünffachen Menge Wasser während 24 Stunden ausgelaugt[1]). Hierauf wurde filtriert und die klare Lösung wurde mit dem gleichen Volumen Glycerin gemischt; hierdurch gewinnt die Enzymlösung erheblich an Haltbarkeit. Diese Lösung haben wir zunächst 14 Tage bei Zimmertemperatur (17,5°) aufbewahrt.

---

[1]) Siehe Takeuchi, Journ. Coll. Agric. Tokyo 1, 1, 1909. Siehe auch Jansen, Chem. Weekblad 12, 482, 1915.

Wir übergehen nun die Beschreibung einer großen Reihe von Vorversuchen, die erforderlich waren, teils um die für unsere Versuche geeigneten Mengenverhältnisse ausfindig zu machen, teils um die Größe der Fehler zu ermitteln, die bei der quantitativen Überführung des durch die enzymatische Spaltung entstandenen Ammoniaks auftreten.

10 ccm einer zweiprozentigen Harnstofflösung werden mit 20 ccm einer zweiprozentigen KH_2PO_4-Lösung versetzt und in einem Thermostaten auf 35° erwärmt. Die Temperatur konnte während der Reaktion auf $\pm$ 0,1° konstant gehalten werden. Hierauf wurden 6 ccm der oben beschriebenen kurz auf 35° vorgewärmten Enzymlösung zugesetzt, worauf die Lösung genau 1 Stunde im Thermostaten stehen gelassen wurde. Nach Verlauf dieser Zeit wurde die Reaktion durch Zusatz von 10 g festen Kaliumcarbonats abgebrochen und das hierdurch freigemachte Ammoniak wurde mittels eines starken Luftstroms in eine abgemessene Menge Schwefelsäurelösung von bekanntem Titer (0,0985 n) bei einer Temperatur von 50° übergesogen. Die nicht verbrauchte Schwefelsäure wurde hierauf mit 0,1132 n-Kalilauge zurücktitriert.

Besondere Sorgfalt haben wir auf die Feststellung gelegt, daß nach genügend langem Saugen tatsächlich die Gesamtmenge des freien Ammoniaks in die Schwefelsäure übergeführt werden kann. Wir haben das Saugen stets zwei Stunden bei 50° fortgesetzt. Versuche mit reinen Ammoniaklösungen, welchen Kaliumcarbonat zugesetzt worden war, lieferten durch die gleiche Methodik 99,9 % der angewandten Ammoniakmenge; die Versuchsfehler, die vom Übertreiben des Ammoniaks in die Schwefelsäure, herrühren sind sicher kleiner als 0,5 %.

Erheblich größer sind die Differenzen, wenn je 6 ccm der wäßrigen Glycerinlösung der Urease möglichst gleichzeitig und gleichheitlich mit der Harnstoff- und der Phosphatlösung gemischt werden und aus jeder der im gleichen Thermostaten stehenden Mischungen nach gleichen Zeiten Proben entnommen werden. Die erhaltenen Ammoniakmengen zeigten dann in der Regel Abweichungen voneinander bis zu 4 % ihres Wertes. Bei 6 Parallelversuchen wurde erhalten (ccm 0,101 n-H_2SO_4):

2,21; 2,18; 2,12; 2,17; 2,19; 2,15. Mittelwert: 2,17 ccm.

Hieraus ergibt sich als durchschnittlicher Fehler 0,0233 ccm =

1,07 %, und als wahrscheinlicher Fehler rund 0,02 ccm = 0,9 %.

Bei der Durchführung der Versuchsreihen kommen hierzu noch die Versuchsfehler durch ungleiche Erwärmung an den verschiedenen Tagen. Wie die Bestimmung des Temperaturkoeffizienten der enzymatischen Harnstoffspaltung ergibt (S. 118; vgl. auch D. van Slyke und Glenn l. c.), ändert sich die Reaktionsgeschwindigkeit bei 35° per 1° etwa um 7 %.

Nur solche Versuche, bei welchen beide Parallelversuche vollständig durchgeführt werden konnten, sind hier verwendet.

In den folgenden Tabellen ist die Anzahl Kubikzentimeter der durch das entwickelte Ammoniak gebundenen Schwefelsäure (0,0985 n) angegeben. Damit ist also die Menge des enzymatisch entwickelten Ammoniaks bestimmt.

Tabelle I.

Datum	ccm 0,0985 n-Schwefelsäure		
	Probe I	Probe II	Mittelwert
8. April	2,49	1,91	2,20
9. „	2,15	2,07	2,11
10. „	2,09	2,10	2,10
11. „	2,13	2,20	2,16
12. „	2,14	2,16	2,15
13. „	2,03	2,09	2,06
14. „	2,12	2,09	2,11
15. „	2,04	2,13	2,09

Ein anderer Versuch, bei dem zu 10 ccm Harnstofflösung und 20 ccm Phosphatlösung 12 ccm Enzymlösung zugesetzt worden waren, ergab folgende Zahlen:

Tabelle II.

Datum	ccm 0,0985 n-Schwefelsäure		
	Probe I	Probe II	Mittelwert
16. April	2,67	2,63	2,65
17. „	2,54	2,60	2,57
18. „	2,63	2,64	2,63
19. „	2,60	2,64	2,62

Mit einer frischen Enzymlösung wurde wieder ein Versuch angestellt mit den gleichen Proportionen wie Versuch 1.

Tabelle III.

Datum	ccm 0,0985 n-Schwefelsäure		
	Probe I	Probe II	Mittelwert
15. April	1,52	1,54	1,53
16. "	1,81	1,64	1,72
17. "	1,70	1,62	1,66
18. "	1.60	1,58	1,59

In unseren sämtlichen Versuchsreihen erwies sich die Wirksamkeit der Ureaselösung ziemlich konstant; Anzeichen für periodische Schwankungen der Wirksamkeit konnten jedenfalls nicht gefunden werden.

Unsere nächsten Versuchsreihen wurden daher bei höherer Temperatur ausgeführt, und zwar gleichzeitig bei 17,5^0, 30^0, 35^0 und 40^0. Die Ureaselösung wurde geteilt, ein Teil (ohne Zusatz) wurde bei 30^0, 35^0 und 40^0 in verschiedenen Thermostaten während der Zeit vom 23. bis 26. April gehalten. Dann wurde diese Enzymlösung in der oben beschriebenen Weise zu der Harnstoffspaltung verwendet, die wie früher bei der für alle Versuche gemeinsamen Temperatur von 35^0 geschah.

Die Ergebnisse waren die folgenden (Mittelwerte aus je 2 Versuchen):

Tabelle IV.

Datum	ccm 0,0985 n-Schwefelsäure			
	Urease vor der Reaktion gehalten auf			
	17,5^0	30^0	35^0	40^0
23. April	1,83	1,81	1,79	1,86
24. "	1,80	1,68	1,83	1,81
25. "	1,75	1,67	1,75	1,64

Bei der nächsten Versuchsreihe wurde folgendermaßen verfahren: Die Erwärmung der Enzymlösungen im Thermostaten auf zwei höhere Temperaturen, 45^0 und 50^0 geschah eine Stunde lang; die Versuchsreihe wurde nur während drei Tagen fortgesetzt, und die Reaktionstemperatur betrug diesmal 30^0.

Tabelle V.

Datum	ccm 0,0990 n-Schwefelsäure		
	Urease vor der Reaktion gehalten auf		
	17,5°	1 Std. 45°	1 Std. 50°
3. Juni	3,75; 3,38	3,12; 3,55	3,35; 3,35
4. "	3,54; 3,45	3,42; 3,35	3,44; 3,42
5. "	3,42; 3,40	3,33; 3,39	3,37; 3,40
Es ergeben sich folgende Mittelwerte:			
3. Juni	3,56	3,33	3,35
4. "	3,50	3,38	3,43
5. "	3,41	3,36	3,38

Durch die einstündigen Erhitzungen auf 45° bzw. 50 ist, wie ersichtlich, die Wirksamkeit der Enzymlösung etwas geschwächt worden (ca. 6%); aber auch bei diesen Lösungen treten hierauf keine anderen Schwankungen ein als diejenigen, die durch die Versuchsfehler bedingt sind.

Im Anschluß an diese letzteren Messungen haben wir den Temperaturkoeffizienten der enzymatischen Harnstoffspaltung zwischen 30° und 40° bestimmt. Natürlich wurden die zu vergleichenden Versuche mit der gleichen Lösung und an den gleichen Tagen angestellt.

Tabelle VI.

Datum	ccm 0,1005 n-Schwefelsäure		
	Probe I	Probe II	Mittelwert
	A. Reaktionstemperatur 30°.		
26. Mai	6,91	7,40	7,16
27. "	7,56	6,71	7,13
28. "	7,20	7,10	7,15
30. "	7,19	7,31	7,25
	B. Reaktionstemperatur 35°.		
26. Mai	10,55	10,35	10,45
27. "	9,95	10,61	10,28
28. "	10,27	9,80	10,04
30. "	10,84	10,41	10,62
	C. Reaktionstemperatur 40°.		
26. Mai	14,20	14,29	14,25
27. "	13,85	14,50	14,18
28. "	13,91	14,29	14,10
30. "	14,40	14,56	14,48

Die Geschwindigkeitszunahme ist im untersuchten Intervall regelmäßig. Für die 10 Grade Temperatursteigerung von 30° auf 40° stieg die entwickelte Ammoniakmenge auf das 1,92fache. Dieser Befund steht in vollkommener Übereinstimmung mit dem auf eingehendere Messungen gegründeten Ergebnis von Donald D. van Slyke und Glenn E. Cullen[1]), denen man eine gründliche Untersuchung über Soja-Urease verdankt.

Auch insofern können wir die Resultate von van Slyke und seiner Mitarbeiter bestätigen, als diese Forscher fanden, daß die Urease zu den weniger temperaturempfindlichen Enzymen zählt. Nach van Slyke wird die Urease durch $^1/_2$ stündiges Erhitzen auf 60° noch nicht verändert; auch wir haben durch einstündiges Erhitzen auf 50° nur eine unbedeutende Änderung der Wirksamkeit gefunden.

Als Ergebnis unserer Versuche müssen wir feststellen, daß innerhalb der untersuchten Zeiträume und Temperaturgebiete keinerlei Anhaltspunkte für eine Periodizität in der Wirksamkeit der Ureaselösung gefunden werden konnten. Es treten Schwankungen in der Wirksamkeit auf, die nicht unbeträchtliche Beträge erreichen, aber nicht größer sind als die Differenzen, die sich bei Parallelbestimmungen ergaben.

Das Zahlenmaterial J. T. Grolls.

Nach diesen Ergebnissen können wir nicht umhin, das Zahlenmaterial, woraus Groll seine Schlüsse gezogen hat, näher in Augenschein zu nehmen.

Die ersten Versuche, die Groll bezüglich Urease mitteilt, erstrecken sich über einen längeren Zeitraum als einer der unseren Versuche. Es ist uns deshalb um so wesentlicher, festzustellen, welcher Grad der Sicherheit gerade diesen Versuchen beizumessen ist.

Leider muß hierzu zunächst konstatiert werden, daß der in der ersten Figur der Grollschen Arbeit dargestellte Versuch, der in erheblich höherem Grad als die übrigen Ver-

[1]) Donald D. van Slyke und Glenn E. Cullen, Journ. of Biolog. Chem. **19**, 141, 1914. Siehe auch Donald D. van Slyke und G. Zacharias, ebenda **19**, 181, 1919.

suche den Eindruck einer Periodizität hervorruft, in einer einzigen Versuchsreihe besteht, und daß sich dabei die Annahme, daß eine Sinusoide vorliegt, auf drei, höchstens vier angegebene Einzelbeobachtungen stützt, nämlich je eine Beobachtung am 8. und 16. September und am 4. Oktober. Denn sehen wir von diesen drei Beobachtungen ab, so hat ja der Verlauf des studierten Vorgangs durchaus nichts Auffallendes. Auch der Versuch, der in Fig. 2 dargestellt wird, entbehrt der Parallelversuche; er bezieht sich auf ein bei 45° aufbewahrtes Präparat. Groll bemerkt hierzu:

„Hier sehen wir also (Fig. 2) eine langsame Abschwächung und eine Kurve, die einer Sinusoide gleicht.“

Zur Beurteilung geben wir die Grollsche Kurve hier wieder, und die ihr zugrunde liegenden Versuchszahlen.

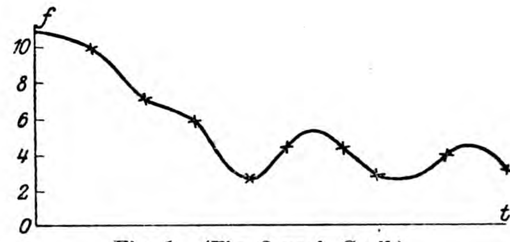


Fig. 1. (Fig. 2 nach Groll.)

Datum	Stärke (Zahl der ccm gebundener Säure)
10. September	10,7
21. „	9,9
24. „	7,1
27. „	5,85
30. „	2,7
2. Oktober	4,5
5. „	4,4
7. „	2,85
11. „	4,0
14. „	3,1

Hätte Groll, ausgehend von der gleichen Enzymlösung, zwei voneinander unabhängige Reaktionsmischungen hergestellt und damit in gleichen Zeitintervallen Parallelversuche ausgeführt, so würde er vermutlich schon hierdurch zu einer anderen Auffassung über den Verlauf der Enzymabschwächung gelangt sein.

Wenn aber Herr Groll sich auch nur auf die eine vorliegende Zahlenreihe vom 10. Sept. bis 14. Okt. stützen will, und den Versuch macht, für die von ihm angenommenen Perioden bzw. Schwingungen Länge und Amplitude zu bestimmen oder auch nur annähernd seine „Sinusoide" zu berechnen, so wird er vermutlich selbst seine Schlüsse wesentlich modifizieren.

Tatsächlich findet man zwischen den von Groll erhaltenen Kurven hinsichtlich der „Schwingungen" auch nicht die Spur einer Übereinstimmung. So ist beispielsweise sein oben erwähnter erster Versuch bei 35° angestellt, und ebenso, und — soweit sich der Beschreibung entnehmen läßt, mit der gleichen Methodik — der folgende, von dem Groll bemerkt:

„Auch hier sieht man Schwingungen, die deutlich über die Wahrnehmungsfehler hinausgehen." Wenn wir die Kurve hier wiedergeben, so erübrigt sich vielleicht eine weitläufigere Besprechung.

Datum	Stärke ccm	Doppelbestimmung ccm
28. Oktober	11,9	12,0
30. „	11,15	—
3. November	12,1	11,6
6. „	9,55	9,5
8. „	10,7	10,75
(Vom 8. zum 9. Nov. blieb das Präparat während 24 Stunden bei Zimmertemperatur, da der Thermostat defekt war.)		
10. November	11,0	11,15
11. „	9,1	9,5
13. „	9,0	9,4
16. „	8,0	8,3
19. „	7,6	7,3
20. „	6,7	7,0



Fig. 2. Kurve nach Groll, punktierte Linie von den Verff.

Wir haben in die Grollsche Kurve den wahrscheinlichen Verlauf des Vorgangs punktiert eingezeichnet. Abstrahiert man von der Grollschen Annahme, daß hier eine Sinusoide vorliegt, so findet man, daß die Abweichungen von den wahrscheinlichen Werten allerdings recht erheblich sind (der durchschnittliche Fehler beträgt etwa 4 %), die indessen schon durch Temperaturschwankungen von $\pm 0,6^0$ hervorgerufen würden. Da Groll über die Temperaturkonstanz seines Thermostaten keine Angaben macht, können wir natürlich nicht sagen, ob diese Deutung zutreffen kann.

Auf die von Groll an Metallsolen gefundenen Resultate braucht hier wohl nicht eingegangen zu werden, da dieselben ja mit Fragen der Dynamik der Enzyme doch höchstens in einem formellen Zusammenhang stehen.

Was aber das von Groll bearbeitete enzymatische Problem angeht, nämlich die allmähliche Abschwächung eines gelösten Enzymes, so muß ohne weiteres zugegeben werden, daß die Verhältnisse hier noch keineswegs geklärt sind; findet man doch in den beststudierten Fällen zweifellos Abweichungen von dem monomolekularen Verlauf der scheinbar einfachen Inaktivierungsreaktion[1]). Auch die Kolloidchemie wird hier noch wesentliche Beiträge liefern können. Eine periodische Dispersitätsänderung in kolloiden Lösungen, wie sie Groll annimmt, und die zu periodischen Änderungen der Wirksamkeit in enzymatischen Lösungen führen könnte, scheint uns allerdings kaum vereinbar mit wesentlichen Grundsätzen der modernen Molekularphysik, zu denen ja gerade von seiten der Kolloidchemie so außerordentlich wertvolle Stützen geliefert worden sind.

---

[1]) Siehe hierzu Euler u. Laurin, Zeitschr. f. physiol. Chem. 107, 1919.

Über die Ehrlichsche Reaktion mit p-Dimethylamidobenzaldehyd und das Urorosein.

Von

E. Salkowski.

(Aus der chem. Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(Eingegangen am 10. Juli 1919.)

Die Reaktion von P. Ehrlich auf Indol besteht bekanntlich darin, daß man der zu prüfenden Flüssigkeit etwas p-Dimethylamidobenzaldehyd und dann einige Tropfen Salzsäure hinzusetzt: Rotfärbung beweist die Gegenwart von Indol. Steensma[1]) hat die Reaktion dahin erweitert, daß man außerdem noch ein Minimum von Nitrit hinzufügt. Er wendet eine 2 $^{0}/_{0}$ige alkoholische Lösung des Aldehyds und eine 0,5 $^{0}/_{0}$ige Lösung von Natriumnitrit an und beschreibt die Reaktion folgendermaßen.

„Zu 2 Teilen der Flüssigkeit, die man auf Indol prüfen will, setzt man 1 Teil des ersten Reagens hinzu und dann tropfenweise Salzsäure, bis eine rote Farbe auftritt. Jetzt fügt man einen oder einige Tropfen einer Natriumnitritlösung (0,5 $^{0}/_{0}$ig) hinzu. Die Farbe geht in ein schönes dunkles Rot über. Diese rote Farbe verschwindet ziemlich bald."

Hierzu möchte ich zunächst bemerken, daß die rote Farbe bei nicht gar zu verdünnten Indollösungen und sehr vorsichtigem Nitritzusatz — weniger als 1 Tropfen genügt — doch recht haltbar ist, wenigstens einige Tage lang, sodann aber, was mir wichtiger scheint, folgendes. Es ist kein Zweifel, daß durch die Anwendung des Nitrits die Reaktion wesentlich

[1]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 47, 25, 1906.

verfeinert wird, aber diese Verfeinerung kann, wie es nicht selten bei Verfeinerungen vorkommt, irreführen und zur fälschlichen Annahme von Indol verleiten. Wenn der Indolgehalt sehr gering ist, so tritt nach dem Zusatz des Aldehyds und der Salzsäure allein keine Rotfärbung ein, sondern erst nach dem Nitritzusatz. Kontrollversuche zeigten nun aber, daß destilliertes Wasser sich ganz ebenso verhält, wenigstens mit dem mir zur Verfügung stehenden Präparat von E. Merck. Setzt man zu destilliertem Wasser das halbe Volumen der Aldehydlösung, dann Salzsäure und sehr vorsichtig Nitritlösung, so tritt eine Rotfärbung ein. Glücklicherweise ist diese „Pseudoreaktion“ sehr leicht von der Indolreaktion zu unterscheiden. Rührt die Reaktion von Indol her, so geht der Farbstoff beim Schütteln mit Amylalkohol in diesen über, bei der Pseudoreaktion dagegen nicht. Außerdem verblaßt die letztere sehr schnell, indessen kann man, wenn man mit der spektroskopischen Untersuchung schnell bei der Hand ist, einen leichten Adsorptionsstreifen der wäßrigen Lösung im Grün feststellen. Theoretisch müßte nun auch bei der Indolreaktion nicht aller Farbstoff in den Amylalkohol übergehen, sondern die wäßrige Reaktionsflüssigkeit rotgefärbt bleiben; tatsächlich ist davon aber nichts oder nur eine Andeutung zu bemerken, sei es, daß dieser Farbstoff mit in den Amylalkohol hineingerissen wird, sei es, daß er zu schnell weiteroxydiert wird.

Im folgenden möchte ich über einige Einzelheiten der Reaktion bei Indol und Indolverbindungen berichten.

1. Indol. Handelt es sich um eine nicht gar zu dünne Indollösung, so ist der Farbstoff auch bei Nitritzusatz, wie gesagt, im Gegensatz zu der Angabe von Steensma tagelang haltbar, namentlich in der Amylalkohollösung. Die Lösung absorbiert bei stärkerer Konzentration das Spektrum ganz bis auf den größten Teil des Rots, bei passender Verdünnung macht sich ein mehr oder weniger starker Absorptionsstreifen im Grün bemerkbar. Sehr eigentümlich ist die Erscheinung, daß bei längerem Stehenlassen ein Teil des Farbstoffes wieder in das Wasser übergeht, und zwar mit purpurroter oder purpurvioletter Farbe, während die Amylalkohollösung selbst nun eine rote Färbung mit einem Stich ins Orange zeigt. Es scheinen sich also bei der Reaktion zwei Farbstoffe zu bilden. Stellt

man die Reaktion ohne Nitritzusatz an, so sind die Absorptionserscheinungen bei stärkerer Konzentration dieselben, bei passender Verdünnung hellt sich aber das Spektrum bis auf einen schmalen, gut begrenzten Absorptionsstreifen zwischen C und D näher an C auf. Hervorheben möchte ich schließlich noch, daß die Ehrlichsche Reaktion schlechter ausfällt, wenn die Konzentration eine gewisse obere Grenze überschreitet. Durch Doppelversuche mit Verdünnungen kann man sich hiervon leicht überzeugen.

2. Indolessigsäure. Herter[1]) gibt an, daß die Indolessigsäure die Ehrlichsche Reaktion zeigt, d. h. ohne Nitritzusatz. Ich habe im Gegensatz dazu bei Anwendung einiger Tropfen 25 %iger Salzsäure entweder gar keine Reaktion erhalten oder nur eine allmählich auftretende ziemlich schwache Rotviolettfärbung. Aus einer mit Nitritzusatz erhaltenen Lösung nimmt Amylalkohol den Farbstoff auf, und die spektroskopische Untersuchung ergibt genau dasselbe Bild wie beim Indol mit dem Aldehyd-, Salzsäure- und Nitritzusatz: bei stärkerer Konzentration vollständige Absorption des Spektrums bis auf einen Teil des Rots, bei Verdünnung mit Amylalkohol einen Absorptionsstreifen im Grün, übereinstimmend mit dem des Indols.

Es fragt sich nun, wie die Differenz zwischen meinem Befund und dem Herters zu erklären ist. Man könnte daran denken, daß die Indolessigsäure von Herter nicht ganz rein gewesen ist. Herter hat Indolessigsäure verschiedenen Ursprungs angewendet: 1. solche, die von Hopkins und Cole aus Tryptophan durch Einwirkung des Bact. coli dargestellt war. Da dieses gleichzeitig Indol abspaltet, so liegt die Möglichkeit vor, daß die angewendete Indolessigsäure nicht frei von Spuren anhängenden Indols war. 2. benutzte Herter Indolessigsäure, die er aus Uroroseinharn durch Extraktion mit Äther erhalten hatte. Herter gibt nun an, daß solcher Harn stets etwas Nitrit enthalte, möglicherweise ist seine Säure nicht ganz frei von Nitrit gewesen. Diese Möglichkeit ist nicht so fernliegend, wie folgender Versuch zeigt. Von einer 1 %igen Natriumnitritlösung wurde 1 ccm zu 100 ccm Wasser gesetzt.

---

[1]) Journ. of physiol. Chem. 4, 253, 1904.

1 ccm dieser Lösung enthielt also 0,1 mg Nitrit. Setzte man nun zu einer negativ ausgefallenen Reaktion mit etwa 6 bis 8 ccm der Indolessigsäurelösung 1 ccm dieser Lösung hinzu, so trat die Rotfärbung sofort ein, ging in den Amylalkohol über, und dieser zeigte den Absorptionsstreifen im Grün. Dasselbe war der Fall, wenn die Indolessigsäurelösung vorher mit 1 ccm der dünnen Nitritlösung = 0,1 mg versetzt war.

Ich muß zugeben, daß beide Erklärungen wenig Wahrscheinlichkeit für sich haben. Viel wahrscheinlicher ist es, daß die Differenz auf der Konzentration und Menge der Salzsäure beruht. In der Tat bekommt man bei reichlicher Anwendung rauchender Salzsäure sofort eine Rotfärbung, die bald in Violett übergeht. Solche Salzsäure hat Herter vermutlich angewendet. Das ist um so mehr anzunehmen, als Herter im vorhergehenden Abschnitte bei Angabe der Reaktion mit Kaliumnitrit und Salzsäure (ohne Aldehyd) von starker Salzsäure spricht.

Sehr eigentümlich und erwähnenswert ist das Verhalten der nur mit p-Dimethylbenzaldehyd und Salzsäure versetzten Lösung der Indolessigsäure, wenn man sie stehen läßt. Man findet sie nach 24 Stunden leicht violett gefärbt, nach 48 Stunden stärker. Setzt man nunmehr Nitrit hinzu, so wird die Lösung intensiv violettblau, eine Färbung, die sich allmählich, namentlich beim Stehen bis zum nächsten Tage, verstärkt. Amylalkohol nimmt dann den Farbstoff vollständig mit gesättigter, prächtig blauer Farbe auf. Die Färbung ist sehr beständig. Diese Lösung absorbiert das Spektrum vollständig, nach passender Verdünnung zeigt sie einen gut begrenzten, ziemlich starken Absorptionsstreifen zwischen D und C, näher an C.

Ich möchte hieran noch eine Bemerkung über das Urorosein knüpfen. Herter wundert sich[1]), daß ich bei meinen Fütterungsversuchen mit Indolessigsäure[2]) nicht an das Urorosein gedacht hätte, trotzdem ich selbst angegeben habe, daß die Lösung der Indolessigsäure mit Salpetersäure und Natriumnitrit einen Absorptionsstreifen im Grün gibt, wie das Uro-

[1]) Dem Sinne nach, nicht wörtlich.
[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 9, 25, 1885.

rosein, und außerdem nachgewiesen habe, daß die eingegebene Indolessigsäure, wenigstens zum größten Teil, unverändert ausgeschieden wird. Tatsächlich ist es mir nicht entgangen, daß der Harn der betreffenden Kaninchen nach dem Ansäuern mit Salzsäure einen Absorptionsstreifen im Grün zeigte; ich habe auch an das Urorosein gedacht, mir schien aber doch eine genauere Feststellung des Absorptionsstreifens notwendig, außerdem die Sache nicht von solcher Bedeutung, daß ich mich veranlaßt gesehen hätte, sie sofort weiter zu verfolgen und dann für sich zu veröffentlichen — die Beobachtung blieb also liegen. Die Arbeit von Herter habe ich erst sehr viel später kennen gelernt[1]). Das geht daraus hervor, daß ich noch in einer Mitteilung in der Zeitschr. f. physiol. Chem. 42, 216, 1904, also doch wohl ohne Kenntnis der Arbeit von Herter, sagte: „Ich halte es für sehr wohl möglich, daß das Urorosein ein aus der Skatolcarbonsäure stammender Farbstoff ist.“ Dabei habe ich aber immer angenommen, daß das Urorosein durch Oxydation der Indolessigsäure im Organismus entstehe; die sehr überraschende von Herter gegebene Aufklärung, daß das Urorosein bei Zusatz von Salzsäure erst aus der im Harn enthaltenen Indolessigsäure durch Einwirkung von gleichfalls im Harn enthaltenem Nitrit entsteht, diese Deutung hat mir ferngelegen. Daß diese Deutung für sehr viele Fälle zutrifft, dafür hat Herter gute Gründe angegeben, das bestreite ich nicht; ob aber für alle, erscheint mir nicht so sicher. Die Tatsache, daß das Urorosein immer erst nach Zusatz von Salzsäure sichtbar wird, beweist die Richtigkeit der Deutung nicht unmittelbar, denn auch bezüglich des Urobilins kann man oft konstatieren, daß es erst nach Salzsäurezusatz deutlich bemerkbar wird. Freilich liegt auch hier die Möglichkeit vor, daß Nitritgehalt des Harns als Oxydationsmittel auf das Urobilinogen wirkt.

3. Indolpropionsäure. Kalt gesättigte Lösung, von der in der Hitze hergestellten, nach dem Erkalten mit Krystallen erfüllten Lösung abfiltriert, gibt mit p-Dimethylamidobenzaldehyd und Salzsäure ganz leichte Rosafärbung, die sich auf

[1]) Auffallenderweise ist dieselbe, soweit ich sehen kann, weder im Chemischen noch im Biochemischen Centralblatt, noch in Malys Jahresbericht referiert.

Nitritzusatz verstärkt. Die Reaktion ist äußerst vergänglich, die Färbung wird sehr schnell orange und verblaßt dann. Wenn man sich aber mit der Ausschüttelung mit Amylalkohol sehr beeilt, kann man in diesem Orangefärbung und Andeutung eines Absorptionsstreifens im Grün feststellen. Vielleicht liegt der schwache Ausfall der Reaktion an der geringen Löslichkeit der Indolpropionsäure, die mir im Gegensatz zu darüber vorliegenden Angaben[1]) geringer zu sein scheint als die der Indolessigsäure. Wendet man rauchende Salzsäure an, so tritt auch hier Rotviolettfärbung auf, die meistens bald in Grün übergeht. Die grüne Lösung wird durch Nitritzusatz tiefblau.

4. Indolaminopropionsäure gibt mit schwacher Salzsäure lediglich die „Wasserreaktion“, gleichgültig wie die Konzentration der Lösung ist, nur die auf Zusatz des Aldehyds und der Salzsäure entstehende Gelbfärbung scheint etwas stärker zu sein als beim Wasser, doch ist auch dieses nicht sicher. Bei reichlichem Zusatz konzentrierter Salzsäure tritt den Angaben Rohdes[2]) entsprechend Rotfärbung auf.

Wie aus dem Vorstehenden hervorgeht, ist eine Unterscheidung von Indol und Indolessigsäure durch die ursprüngliche Ehrlichsche Reaktion möglich, durch die mit Nitritzusatz nicht, ebensowenig, wie ich hinzufüge, durch die Reaktion mit Salzsäure und Nitrit. Verwechselungen sind ja aber durch die physikalischen Eigenschaften, namentlich durch die Flüchtigkeit des Indols mit Wasserdämpfen, ausgeschlossen. Bemerkenswert ist, daß die verschiedenen roten Farbstoffe äußerlich, nach Löslichkeitsverhältnissen und Spektraleigenschaften, gleich erscheinen, obwohl eine Identität der durch einfache Oxydation und der bei der Ehrlichschen Reaktion entstehenden doch sicher ausgeschlossen ist. Schon früher habe ich[3]) gezeigt, daß bei der Einwirkung von Säure und Nitrit auf Indolessigsäure kein Nitrosoindol entsteht, wie man annehmen könnte.

---

[1]) Hoppe-Seyler-Thierfelder, 8. Aufl., S. 299.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 44, 160, 1905.

[3]) Zeitschr. f. physiol. Chem. 9, 24, 1885.

Notiz über die quantitative Bestimmung von Formaldehyd im Blut.

Von

E. Salkowski.

(Aus der chemischen Abteilung des Pathologischen Instituts der Universität Berlin.)

(*Eingegangen am 10. Juli 1919.*)

Durch einen Zufall wurde ich vor die Frage gestellt, wie sich wohl ein Quantum von entbehrlich gewordenem, ursprünglich für Kriegszwecke bestimmten Blutalbumin verwenden ließe. Da es sich um eine recht erhebliche Quantität — dem Vernehmen nach 3 Eisenbahn-Güterwagen voll — handelte, lag es für mich nahe, an die Verwertung für die menschliche Ernährung zu denken. Das betreffende Blutalbumin war zwar fast schwarz und den mir gemachten Angaben nach unter Verwendung von Formalin hergestellt, aber ohne merklichen Geruch. Da die fast schwarze Farbe vom Blutfarbstoff herrührte, bestand die Möglichkeit, damit nach meinem Verfahren[1]) oder dem etwas abgeänderten von Hofmeister[2]) ein schwach gefärbtes — von Hofmeister Sandecol oder Sanol genanntes — Eiweißpulver darzustellen, dessen praktische Verwendung für die menschliche Ernährung Hofmeister erprobt hat.

Der angebliche Formalingehalt konnte mich nicht abschrecken, da ein schwach formaldehydhaltiges Eiweißmaterial meiner Ansicht nach unschädlich ist. Ich berufe mich zur Be-

[1]) Diese Zeitschr. **19**, 106, 1909 und Berl. klin. Wochenschr. **1915**, Nr. 23.

[2]) Münch. med. Wochenschr. **1916**, Nr. 19.

gründung dieser Ansicht auf Versuche, die ich vor einigen Jahren in dieser Zeitschrift[1]) veröffentlicht habe. Bei diesen Versuchen erhielt ein Hund zuerst mehrere Tage lang als ausschließliches Eiweißmaterial auskoaguliertes Bluteiweiß, das 10 Tage lang unter 1⁰/₀iger Formalinlösung gestanden hatte und ohne vorhergehendes Auswaschen abgepreßt war, mit Reis und Speck als Nahrung. Der Hund befand sich dabei völlig gut. Es folgten 2 Fleischtage. An den nächsten 5 Tagen erhielt der Hund täglich 125 g des unter Zusatz von ½⁰/₀ Formalin als zusammenhängenden Kuchen in einer geschlossenen Büchse auskoagulierten Blutes und endlich nach einer Pause von 5 Tagen direkt zu dem Futter an 5 Tagen 0,65 bzw. 1,0 — 1,0 — 0,65 — 0,65 g Formalin. Die Ausnutzung der Nahrung blieb danach unverändert gut, ebenso das ganze Befinden. Ich bin danach überzeugt, daß kleine Quantitäten Formaldehyd auch in der menschlichen Nahrung zu keinen Bedenken Anlaß geben würden. Außerdem war wohl auch zu erwarten, daß bei der Herstellung des Eiweißpulvers wenigstens ein Teil des Formaldehyds entweichen würde.

Es handelte sich nun um ein Verfahren zur quantitativen Bestimmung des Formaldehyds im Blut bzw. Blutalbumin und dem daraus dargestellten Eiweißpulver. Während der Nachweis von Formaldehyd im Blut und eiweißhaltigen Flüssigkeiten keinen Schwierigkeiten unterliegt — es genügt dazu einfaches Auskoagulieren und Anstellung der Reaktionen im Filtrat, nötigenfalls nach vorangeschickter Destillation desselben —, existiert meines Wissens ein Verfahren zur Bestimmung der Menge des Formaldehyds im Blut nicht. Für Verbindungen, die leichter flüchtig sind als Formaldehyd aus seinen Lösungen, genügt ja die Behandlung des Blutes durch einen Luftstrom oder Dampfstrom, eventuell unter Zuhilfenahme der Druckverminderung, für Formaldehyd, der anerkanntermaßen außerordentlich schwer vollständig übergeht, ist dieses Verfahren aber unanwendbar. Es läßt sich nicht vermeiden, daß man genötigt ist, den das verdünnte Blut enthaltenden Kolben zur Regulierung des Volumens direkt zu erhitzen. Dabei besteht die Gefahr, daß der Kolben infolge Ansetzens von auskoagu-

[1]) Diese Zeitschr. 71, 365, 1915.

liertem Eiweiß an einer Stelle und Überhitzen derselben springt, die Bestimmung somit verloren geht. Es liegt nun sehr nahe, dem Blut die Eigenschaft zu gerinnen zu benehmen, indem man es der Pepsinverdauung unterwirft, ehe man es erhitzt. Ich möchte darauf hinweisen, daß man von der Verdauung von Blut und Organen überhaupt einen vielfach sehr förderlichen Gebrauch machen kann bei der Untersuchung auf heterogene Substanzen. So läßt sich auch der Nachweis metallischer, vielleicht auch anderer Gifte, worauf ich gelegentlich des Nachweises von Quecksilber[1]) hingewiesen habe, durch vorgängige Verdauung außerordentlich erleichtern.

Bei meinen Versuchen, die ich bei der immer noch bestehenden Schwierigkeit, Blut zu wissenschaftlichen Zwecken zu erhalten, leider nur in beschränkter Anzahl habe ausführen können, verfuhr ich im einzelnen folgendermaßen.

Zu 225 ccm Blut wurden 25 ccm einer Formaldehydlösung gesetzt, die 3,82 % Formaldehyd enthielt. Der Gehalt war durch Titrieren mit Jodlösung und Natriumthiosulfat nach dem schon öfter zitierten Verfahren von Romijn[2]) festgestellt. 250 ccm des Gemisches enthielten somit 0,955 Formaldehyd. Es könnte auffallend erscheinen, daß ich keinen höheren Gehalt gewählt habe, ein höherer Gehalt kommt aber nicht in Betracht, da schon bei diesem das Blut innerhalb weniger Tage zu einer gelatinösen Masse erstarrt. Von dieser Mischung wurden 50 ccm, entsprechend 0,191 Formaldehyd zu 200 ccm in einem Glasstöpselgefäß befindlichen künstlichen Magensaft hinzugesetzt. Die Verdauung von Blut geht bei 40°, wie ich schon bei einer anderen Gelegenheit erwähnt habe, außerordentlich schnell vor sich, die Mischung war schon nach 24 Stunden verwendbar.

100 ccm der verdauten Mischung, die $\frac{0,191 \times 2}{5} = 76,4$ mg Formaldehyd enthalten, dienten zur Bestimmung. Dieses Quantum wurde mit 100 ccm Wasser versetzt und aus einem Kolben mit Glasschliff destilliert. Da ich von früheren Versuchen her wußte, wie schwer der Formaldehyd vollständig übergeht, wurde mit direkter Flamme auf dem Drahtnetz, soweit als

[1]) Diese Zeitschr. **61**, 29, 1914.

[2]) Zeitschr. f. anal. Chem. **36**, 18, 1897.

irgend möglich, abdestilliert. In der Regel gelang es, 170 bis 175 ccm Destillat zu erhalten. Um ein sicheres Urteil zu haben, wurde das Destillat in zwei Meßzylindern von 100 ccm aufgefangen. Zwei nahm ich nur deshalb, weil sie sich dem Destillierapparat besser anpaßten als ein solcher zu 200 ccm. Nach dem Erkalten wurde der Kolben geöffnet und eine dem Volumen des Destillats genau entsprechende Menge Wasser hinzugesetzt, aufs neue soweit als möglich abdestilliert. Es zeigte sich, daß auch diese doppelte und möglichst weitgehende Destillation beim Blut nicht ausreicht, während sie bei wäßrigen Lösungen genügt. Das Verfahren wurde also nochmals wiederholt, alle Destillate vereinigt und zu größerer Bequemlichkeit bei der Berechnung durch Wasserzusatz auf 600 ccm abgerundet, 50 ccm mit 10 ccm $^n/_{10}$-Jodlösung versetzt usw., in jedem Destillat wurde die Bestimmung doppelt ausgeführt. Die angewendeten Titrierflüssigkeiten waren natürlich dieselben, die zur Herstellung des Formaldehydgehaltes des Blutes gedient hatten, und zwar entsprachen 10 ccm der Jodlösung 10,2 ccm der Thiosulfatlösung.

Versuch 1. 50 ccm des Destillates erforderten 6,4 und 6,5 ccm, im Mittel 6,45 ccm der angewendeten Thiosulfatösung = 6,32 $^n/_{10}$, also gebunden 3,68 Jodlösung. 1 ccm = 1,5 mg Formaldehyd. Die in 50 ccm vorhandene Formaldehydquantität betrug somit 5,52 mg, die im ganzen Destillat enthaltene 5,52 $\times$ 12 = 66,4 mg statt der erforderten 76,4 mg.

Versuch 2. Dieselbe Verdauungslösung. 50 ccm des Destillates brauchten 6,45 und 6,30, im Mittel 6,37 ccm Thiosulfatlösung = 6,24 $^n/_{10}$, also gebunden 3,76 ccm Jodlösung = 5,640 mg Formaldehyd in 50 ccm = 67,7 mg im ganzen statt 76,4 mg.

Ein Versuch, ob vielleicht ein stärkerer Säuregehalt ein besseres Resultat ergeben möchte, hatte auch nicht den gewünschten Erfolg.

Versuch 3. Hierzu diente eine neu hergestellte und verdaute Mischung von derselben Zusammensetzung. 100 ccm wurden statt mit 100 Wasser mit 90 Wasser und 10 ccm verdünnter Schwefelsäure (200 g auf 1 l aufgefüllt) versetzt, dann ebenso verfahren. 50 ccm erforderten 6,5 und 6,6 ccm, im Mittel 6,55 ccm der Thiosulfatlösung = 6,42 $^n/_{10}$, also gebunden 3,58 ccm

Jodlösung = 52,7 mg in 50 ccm, im ganzen 63,24 mg statt 76,4 mg.

Im Mittel der drei Versuche sind nur 65,51 mg Formaldehyd gefunden, statt 76,4 also 85,73 %. Was die Ursache des Defizits anbetrifft, so liegt es nahe, anzunehmen, daß ein Teil des Formaldehyds so fest an Eiweiß gebunden ist, daß es durch Erhitzen unter Säurezusatz nicht abgespalten werden kann.

Obwohl die Methode also unzureichend ist, habe ich sie doch, da sie wenigstens den größten Teil des Formaldehyds ergibt, auf das fragliche Bluteiweiß angewandt. Dasselbe löste sich nur sehr unvollständig in Wasser, wurde deshalb fein gepulvert und 15 g, etwa 50 g Blut entsprechend, allmählich mit 235 ccm künstlichem Magensaft verrieben, die Mischung in einem verschlossenen Glasstöpselgefäß auf 24 Stunden in den Thermostaten gebracht. Nach dieser Zeit war fast nichts Unverdautes mehr vorhanden und die Mischung ließ sich, ohne daß Gerinnung eintrat, erhitzen. Um genau bei demselben Verfahren zu bleiben, wurden 100 ccm mit ebensoviel Wasser versetzt und destilliert, das Destillat jedoch in einzelnen Fraktionen von etwa 50 ccm aufgefangen, auch nicht soweit abdestilliert. Da einige Kubikzentimeter der ersten Fraktion nur eine ganz schwache Reaktion auf Formaldehyd gaben, konnte von einer quantitativen Bestimmung nicht die Rede sein; dasselbe ergab sich für die späteren Fraktionen. Ebensowenig in einem zweiten Versuch, bei dem 200 ccm direkt destilliert wurden.

Die Destillate reagierten nicht unerheblich sauer, waren leicht getrübt, augenscheinlich durch Fettsäuren, und zeigten auch außerdem einen unangenehmen Geruch, der jedoch eigentlich nicht an Indol erinnerte. Trotzdem war dieses durch die Ehrlichsche Reaktion mit p-Dimethylamidobenzaldehyd nachweisbar, und zwar schon durch Salzsäurezusatz allein, ohne nachträglichen Nitritzusatz nach Steensma. Trotz dieses ungünstigen Ergebnisses habe ich noch den Versuch gemacht, daraus ein Ernährungsmaterial herzustellen. Da das Präparat sich in reinem Wasser sehr wenig löste, mußte Natronlauge zu Hilfe genommen und mit Essigsäure ausgefällt werden. Die Entfärbung mit H_2O_2 gelang nur unvollständig; dem

schließlich erhaltenen Produkt haftete ein zwar schwacher, aber doch merklicher unangenehmer Geschmack an, so daß ich auf die Idee, ein für die menschliche Ernährung geeignetes Material aus dem vorliegenden Blutalbumin herzustellen, verzichten mußte und es als Beigabe zu eiweißarmem Tierfutter zu verwenden empfahl. Ob dieser Rat befolgt ist, ist mir nicht bekannt geworden.

Selbstverständlich ist dieses Verdauungsverfahren nicht auf Formaldehyd beschränkt. Es bewährte sich mir bei der Untersuchung von 50 ccm menschlichen Blutes auf Methylalkohol in einem Fall, in dem ein entsprechender Verdacht vorlag. Im Destillat konnte ich denselben nach dem Verfahren von Denigès mit fuchsinschwefliger Säure, Reaktion von Schrywer, namentlich aber durch die von mir empfohlene Probe mit Eisenchlorid, Pepton und Salzsäure nachweisen[1]).

Auch für eine dritte Substanz, betreffs deren ich in einiger Zeit berichten werde, zeigte es sich sehr geeignet.

---

[1]) Vgl. über diese Probe meine Mitteilungen in der Zeitschr. f. Untersuchung der Nahrungsmittel **28**, 225, 1914; **36**, 222, 1918.

Titrationen mit oberflächenaktiven Stoffen als Indicator.

1. Mitteilung.

Aciditätsbestimmungen mit den Homologen der Fettsäurereihe.

Von

Wilhelm Windisch und Walther Dietrich.

(Aus dem technisch-wissenschaftlichen Laboratorium des Instituts für Gärungsgewerbe Berlin.)

(Eingegangen am 10. Juli 1919.)

Mit 3 Figuren im Text.

In einer größeren Arbeit[1]) „Über Art, Entstehung und physiologische Bedeutung der Acidität beim Keimen der Gerste" hatten wir die Gesamtacidität nach Lüers[2]), die auf einer Ti. tration unter Zugrundelegung des Walpoleschen Prinzips mit Natronlauge und Phenolphthalein als Indicator bis zu einem gewissen roten Farbton beruht, der die Gewähr gibt, daß sämtliches in der zu titrierenden Flüssigkeit vorhandenes primäres Phosphat in sekundäres übergegangen ist, im einzelnen mit rein chemischen Methoden in Acidität der freien organischen Säuren, des primären Phosphats und des Phytins in Kaltwasserauszügen von Gersten, Malzen und Malzkeimen zerlegt.

In weiterer Verfolgung des Aciditätsproblems gingen wir dazu über, eine Methode, die von J. Traube und R. Somogyi[3]) angegeben wird, für unsere Ziele nutzbar zu machen. In der angegebenen Arbeit schreibt J. Traube: „Wenn man zu

---

[1]) W. Windisch und W. Dietrich, Wochenschrift für Brauerei **1918,** Nr. 25 bis 30.

[2]) Lüers, Zeitschr. f. d. ges. Brauwesen **37**, 1914.

[3]) J. Traube und R. Somogyi, Internat. Zeitschr. f. physik.-chem. Biologie **1**.

der capillarinaktiven Lösung des Salzes einer capillaraktiven schwachen Base (wie Chininchlorhydrat) eine stärkere capillarinaktive Base setzt, so wird die schwächere Base als solche in Freiheit gesetzt, und es tritt eine Oberflächenspannungsverminderung ein, die man mit Hilfe des Stalagmometers oder Viscostagonometers messen kann.

Außer dieser Methode der Alkalitätsbestimmung ist in analoger Weise eine Methode der Aciditätsbestimmung möglich; denn wenn man zu dem capillarinaktiven Salze einer capillaraktiven schwachen Säure eine stärkere capillarinaktive Säure setzt, so wird die schwache capillaraktive Säure in Freiheit gesetzt und man erhält eine Oberflächenspannungsverminderung, die die vorhandene Menge der stärkeren Säure zu bestimmen ermöglicht.

Diese ganz neuen und empfindlichen Methoden der Alkalitäts- und Aciditätsbestimmungen sind im Prinzip den Indicatormethoden vergleichbar, aber denselben, insbesondere wegen der Unabhängigkeit von der Färbung der zu untersuchenden Flüssigkeiten, sowie auch der schnellen Ausführbarkeit mit kleinsten Flüssigkeitsmengen, wesentlich überlegen.

Es kommt nur auf die Wahl der geeigneten Indicatorbasen und -säuren der betreffenden Salze an. Diese Basen bzw. Säuren müssen möglichst schwach sein, möglichst capillaraktiv, löslich und nicht zu flüchtig.“ So weit J. Traube.

Daß diese Methoden für physiologische Flüssigkeiten, die selbst capillaraktiv sind, gegenüber den Indicatormethoden mit Farbstoffen, große Nachteile zeigen, darauf soll noch später eingegangen werden.

J. Traube und R. Somogyi glaubten im Natriumisovalerianat einen Indikator von hinreichender Empfindlichkeit für Säuretitrationen gefunden zu haben, betonen allerdings, daß sich in den höheren Homologen der Fettsäurereihe noch emp findlichere ergeben würden.

1. Isovaleriansäure.

Für die folgenden Versuche wurde ein Viscostagonometer mit dem Wasserwert 114,5 bei 18 bis 20^0 benutzt, d. h. die Größe der Wassertropfen, die aus der in 500 Teile graduierten Capillare ausfließen, betrug 114,5 Teilstriche.

Um die Größe der Ausschläge von verschiedenen Verdünnungen festzustellen, wurde eine $^{n}/_{10}$-Lösung von Isovaleriansäure gegen Phenolphthalein hergestellt.

Oberflächenspannung der $^{n}/_{10}$-Lösung 74,9

	Oberflächenspannung
1 ccm $^{n}/_{10}$-Isovaleriansäure + 9 ccm Wasser	105,7
2 „ „ „ + 8 „ „	99,2

Die Oberflächenspannungsausschläge, die mit dem Salz der Isovaleriansäure dem Natriumisovalerianat im Viscostagonometer bei Zusatz von sauren Stoffen erzielt wurden, sind aus einer der folgenden Tabellen ersichtlich.

Die Natriumisovalerianatlösung, die als Indicator diente, wurde hergestellt durch Auflösen von 6,25 g Kahlbaumsches Präparat in 250 ccm Wasser entsprechend einer $^{n}/_{5}$-Lösung.

Es soll gleich bemerkt werden, daß die Konzentration des Indicatorsalzes in der zu titrierenden Lösung eine Rolle spielt. Allerdings kommen die Differenzen, die in der Empfindlichkeit auftreten für die Bewertung einer Fettsäure als Indicator nicht in Betracht. Für unsere Versuche wurde daher die Indicatorsalzkonzentration nicht geändert.

Um zu prüfen, ob die Spannung des Isovalerianats, die nicht ganz den Wasserwert zeigt, noch in die Höhe zu bringen ist, da ja die Möglichkeit des Vorhandenseins von Spuren freier Valeriansäure vorhanden ist, wurde noch Kalilauge hinzugegeben.

	Oberflächenspannung
5 ccm Na-Isovalerianat + 5,0 ccm Wasser + 0,0 ccm $^{n}/_{10}$-Lauge	112,0
5 „ „ „ + 4,9 „ „ + 0,1 „ „ „	112,5
5 „ „ „ + 4,0 „ „ + 1,0 „ „ „	112,0

Die geringe Spannung der Isovalerianatlösung ist also Eigenspannung.

Einwirkung von $^{n}/_{10}$-Salzsäure.

	Oberflächenspannung
5 ccm Na-Isovalerianat + 5,0 ccm Wasser + 0,0 ccm $^{n}/_{10}$-Salzsäure	112,0
5 „ „ „ + 4,9 „ „ + 0,1 „ „ „	110,3
5 „ „ „ + 4,5 „ „ + 0,5 „ „ „	104,5
5 „ „ „ + 4,0 „ „ + 1,0 „ „ „	100,2
5 „ „ „ + 3,5 „ „ + 1,5 „ „ „	95,9
5 „ „ „ + 3,0 „ „ + 2,0 „ „ „	93,0

Im folgenden wurde nun die Einwirkung einiger physiologisch wichtiger Stoffe wie primäres Kaliumphosphat, Milchsäure, einige Aminosäuren, Phytin usw. auf das Isovalerianat festgestellt, um evtl. zu einer Differenzierung der Körper in Gemischen auf diesem Wege zu kommen.

Einwirkung von $^n/_{10}$-primärem Phosphat.

Die Kaliumphosphatlösung wurde hergestellt durch Auflösen von 13,6 g Phosphat (Präparat zu Enzymstudien nach Sörensen von Kahlbaum) im Liter.

			Oberflächenspannung
5 ccm Na-Isovalerianat	+ 5,0 ccm Wasser	+ 0,0 ccm prim. Phosphat	112,0
5 „ „ „	+ 4,5 „ „	+ 0,5 „ „ „	110,2
5 „ „ „	+ 3,5 „ „	+ 1,5 „ „ „	108,0
5 „ „ „	+ 3,0 „ „	+ 2,0 „ „ „	107,3

Einwirkung von $^n/_{10}$-Milchsäure.

Die Milchsäure als solche ist fast capillarinaktiv.

			Oberflächenspannung
5 ccm Na-Isovalerianat	+ 5,0 ccm Wasser	+ 0,0 ccm $^n/_{10}$-Milchsäure	112,0
5 „ „ „	+ 4,5 „ „	+ 0,5 „ „ „	103,9
5 „ „ „	+ 4,0 „ „	+ 1,0 „ „ „	99,1
5 „ „ „	+ 3,0 „ „	+ 2,0 „ „ „	92,7

Die Wirkung der Milchsäure auf das Isovalerianat entspricht der der Salzsäure.

Einwirkung von $^n/_{10}$-Alanin.

Die Alaninlösung selbst ist praktisch capillarinaktiv und wirkt auf das Isovalerianat nicht merkbar spannungserniedrigend.

Einwirkung von $^n/_{10}$-Asparagin.

Die Asparaginlösung als solche ist praktisch capillarinaktiv.

			Oberflächenspannung
5 ccm Na-Isovalerianat	+ 5,0 ccm Wasser	+ 0,0 ccm $^n/_{10}$-Asparagin	112,0
5 „ „ „	+ 4,0 „ „	+ 1,0 „ „ „	111,0

Einwirkung von $^{n}/_{10}$-Glutaminsäure.

Die Lösung als solche ist praktisch capillarinaktiv.

	Oberflächenspannung
5 ccm Na-Isovalerianat + 5,0 ccm Wasser + 0,0 ccm $^{n}/_{10}$-Glutaminsäure	112,0
5 „ „ „ + 4,0 „ „ + 1,0 „ „ „	104,4
5 „ „ „ + 3,5 „ „ + 1,5 „ „ „	102,3
5 „ „ „ + 3,0 „ „ + 2,0 „ „ „	100,3

Einwirkung von $^{n}/_{10}$-Leucin.

Die Lösung war etwas schwächer als $^{n}/_{10}$, da die Löslichkeit eine $^{n}/_{10}$-Lösung nicht zuläßt.

Das Leucin ist als solches schon ziemlich capillaraktiv.

	Oberflächenspannung
1 ccm $^{n}/_{10}$-Leucin + 9,0 ccm Wasser	113,5
2 „ „ „ + 8,0 „ „	110,0
5 „ „ „ + 5,0 „ „	102,4

	Oberflächenspannung
5 ccm Na-Isovalerianat + 5,0 ccm Wasser + 0,0 ccm $^{n}/_{10}$-Leucin	112,0
5 „ „ „ + 4,0 „ „ + 1,0 „ „ „	108,5

Einwirkung von $^{n}/_{10}$-Phytin.

Zur Herstellung der Lösung wurde ein Baseler Phytinpräparat gewählt und die Formel $C_6H_{18}P_6O_{27}Ca_2Mg$ von Starkenstein der Berechnung zugrunde gelegt. Die Phytinlösung als solche ist praktisch capillarinaktiv.

Beim Zusatz des Isovalerianats schied sich ein Niederschlag aus, evtl. sekundäres Phytinsalz, das sich abfiltrieren ließ. Die Filtrate zeigten dann die folgenden Spannungen.

	Oberflächenspannung
5 ccm Na-Isovalerianat + 5,0 ccm Wasser + 0,0 ccm $^{n}/_{10}$-Phytin	112,0
5 „ „ „ + 4,8 „ „ + 0,2 „ „ „	109,7
5 „ „ „ + 4,5 „ „ + 0,5 „ „ „	105,8
5 „ „ „ + 4,0 „ „ + 1,0 „ „ „	101,9

Die Titration einer unbekannten praktisch capillarinaktiven sauren Lösung würde sich so gestalten, daß man zu derselben eine bestimmte Menge Isovalerianatlösung zusetzt und so lange mit $^{n}/_{10}$-Natronlauge titriert, bis die Oberflächenspannung, die die Flüssigkeit vor dem Zusatz des Indicators hatte, erreicht ist. Auf diese Weise lassen sich Lösungen nur titrieren, wenn

sie ganz schwach sauer sind, da sonst durch die $^{n}/_{10}$-Lauge die Verdünnung zu stark wird, was die Oberflächenspannung beeinflußt. In diesem Falle muß man durch Wasser, wie in den Tabellen ersichtlich, die Konzentration ausbalancieren.

Aus vorliegendem Zahlenmaterial ist die Empfindlichkeit der Valeriansäure als Indicator zur Genüge charakterisiert. Es zeigt sich, daß die Genauigkeit der Farbentitration bei weitem nicht erreicht wird; denn wenn auch noch mit stark dissoziierten Säuren wie Salzsäure und Milchsäure durch 0,1 ccm $^{n}/_{10}$-Säure ein merklicher Ausschlag erfolgt, so sind schon 0,5 ccm $^{n}/_{10}$-primäres Phosphat in 10 ccm Lösung nötig, um eine deutliche Herabsetzung der Spannung zu erreichen.

Eine solche Menge überschreitet nun bei weitem das, was sich in unseren physiologischen Lösungen (Kaltwasserauszügen von Gersten, Malzen, in Bierwürzen, Bieren usw.) an primärem Phosphat, auf das hauptsächlich die Acidität von diesen Lösungen zurückzuführen ist, findet. Die Empfindlichkeit der Isovaleriansäure würde also für derartige Lösungen zu gering sein.

Die Einwirkung der in den Tabellen angeführten Stoffe auf das Natriumisovalerianat ist ganz verschieden. Am stärksten wirken Salzsäure und Milchsäure, dann Phytin, Glutaminsäure, primäres Phosphat, Asparagin, und sozusagen unwirksam ist Alanin.

Aus der Reihe fällt Phytin, das nach seiner Formel dem primären Phosphat angereiht oder gleichgereiht werden müßte. Es handelt sich hier aber um ein aus Pflanzen hergestelltes und nicht synthetisches Präparat, bei dem stets Verunreinigungen, auch saurer Natur, möglich sind.

Die Verschiedenheit der Ausschläge (siehe $^{n}/_{10}$-Salzsäure und $^{n}/_{10}$-primäres Phosphat) bei verschiedenen Dissoziationskonstanten, und andererseits wieder die Gleichheit (siehe $^{n}/_{10}$-Salzsäure und $^{n}/_{10}$-Milchsäure) bei verschiedenen Dissoziationskonstanten gibt zu interessanten theoretischen Erörterungen Anlaß, die aber erst in einer späteren Arbeit veröffentlicht werden sollen, da hierzu noch ergänzende Versuche notwendig sind.

Da sich in Pflanzenauszügen, worauf schon an anderer Stelle hingewiesen wurde, in 10 ccm eine Gesamtacidität nach

Lüers ermitteln läßt, die etwa 1,0 bis 1,5 ccm $^{n}/_{10}$-Lauge entspricht, und die wohl in der Hauptsache auf primäres Phosphat zurückzuführen ist, so mußten wir in der weiteren Verfolgung unserer Titrationen zu Indicatorsäuren zu kommen suchen, die die Empfindlichkeit der Isovaleriansäure um das Vielfache übertreffen. Die Empfindlichkeit der Indicatorsäure bzw. des Salzes derselben muß so groß sein, daß sich in 50 ccm Flüssigkeit noch auf einen Tropfen Salzsäure bzw. 0,1 bis 0,2 ccm primären Phosphats ein deutlicher Ausschlag bemerkbar macht.

Zur Auswahl einer derartigen Säure gibt nun die „Traubesche Regel" einen Anhalt, die besagt, daß in der homologen Reihe der Fettsäuren die um ein Kohlenstoffatom reichere Säure stets dreimal so oberflächenaktiv ist, wie die vorhergehende.

Wir haben die Säuren für unsere Zwecke bis zur Undecylsäure verfolgt, allerdings wurden einige Säuren in der Reihe übersprungen.

2. Capronsäure.

Es wurde eine $^{n}/_{20}$-Capronsäurelösung gegen Phenolphthalein hergestellt. Die Löslichkeit im Wasser ist schon zu gering, um eine Konzentration von $^{n}/_{10}$ zu erreichen.

Oberflächenspannung der $^{n}/_{20}$-Lösung 55,3

	Oberflächenspannung
2 ccm $^{n}/_{20}$-Capronsäure + 8,0 ccm Wasser	86,1
4 „ „ „ + 6,0 „ „	74,2

Es zeigt sich die bedeutend größere Empfindlichkeit gegenüber der Isovaleriansäure.

3. Heptylsäure.

Die Heptylsäure wurde als $^{n}/_{50}$-Lösung gegen Phenolphthalein eingestellt, was einer nicht ganz gesättigten Lösung entspricht.

Oberflächenspannung der $^{n}/_{50}$-Lösung 51,9

	Oberflächenspannung
0,25 ccm Heptylsäure + 9,75 ccm Wasser	113,0
0,5 „ „ + 9,5 „ „	107,0
2,5 „ „ + 7,5 „ „	80,7
5,0 „ „ + 5,0 „ „	66,8

Um die folgenden Versuche auszuführen, stellten wir uns eine Indicatorlösung von heptylsaurem Natrium (Kahlbaum) her, in dem 0,7 g in 100 ccm Wasser gelöst wurden, was etwa einer $^{n}/_{25}$-Lösung entspricht. Diese Lösung zeigte eine Spannung von 85,3. Sie war also capillaraktiv, was zeigte, daß noch freie Säure vorhanden war, und in der Tat verbrauchten 5 ccm des Heptylats gegen Phenolphthalein noch 0,35 ccm $^{n}/_{10}$ Lauge. Die Spannung stieg dadurch an.

5 ccm Na-Heptylat + 0,35 ccm $^{n}/_{10}$-Lauge 110,5.

Die ganze Lösung wurde nun in dieser Weise neutralisiert, um eine capillarinaktive Indicatorlösung zu haben. Daß die Lösung nicht überneutralisiert war, zeigte folgender Versuch:

5 ccm Na-Heptylat + 0,30 ccm $^{n}/_{10}$-Lauge 106,0.

Die Empfindlichkeit der Indicatorlösung ergibt sich aus folgenden Zahlen:

Einwirkung von $^{n}/_{10}$-Milchsäure.

	Oberflächen-spannung
5 ccm Na-Heptylat + 5,0 ccm Wasser + 0,0 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure	112,5
5 „ „ „ + 4,9 „ „ + 0,1 „ „ „	102,0
5 „ „ „ + 4,0 „ „ + 1,0 „ „ „	67,1

Einwirkung von $^{n}/_{10}$-primärem Phosphat.

	Oberflächen-spannung
5 ccm Na-Heptylat + 5,0 ccm Wasser + 0,0 ccm $^{n}/_{10}$-prim. Phosphat	112,5
5 „ „ „ + 4,0 „ „ + 1,0 „ „ „ „	97,6

Versuch einer Stufentitration von freier Säure neben primärem Phosphat.

Befindet sich in einer Lösung eine freie, bedeutend stärker als primäres Phosphat dissoziierte Säure neben dem letzteren, so wird die an sich schwache Dissoziation des sekundären Wasserstoffatoms der Phosphorsäure bis auf ein Minimum zurückgedrängt, so daß, wenn durch allmählichen Zusatz von Lauge eine Neutralisation der Lösung vorgenommen wird, zuerst eine solche der Säure erfolgen muß. Es wird sich demnach, wenn man zu einem Säurephosphatgemisch ein capillarinaktives Salz einer capillaraktiven schwachen Säure zusetzt und durch Zusatz von Lauge allmählich eine Neutralisation

eintreten läßt, an der Übergangsstelle von freier Säure und primärem Phosphat infolge der ganz verschieden starken Wirkung, die beide durch ihre verschiedenen Dissoziationskonstanten auf das Salz ausüben, ein Knick in der ansteigenden Oberflächenspannungskurve eintreten, der in unbekannten Lösungen gestatten würde, die Menge der freien Säure zu bestimmen.

Versuch einer gestuften Titration.

5 ccm Na-Heptylat + 1,0 ccm $^n/_{10}$-Milchsäure + 1,0 ccm primäres Phosphat

versetzt mit	Oberflächenspannung
3,0 ccm Wasser + 0,0 ccm $^n/_{10}$-Lauge	67,7
2,5 „ „ + 0,5 „ „	75,3
2,3 „ „ + 0,7 „ „	85,0
2,2 „ „ + 0,8 „ „	89,2
2,1 „ „ + 0,9 „ „	93,8
2,0 „ „ + 1,0 „ „	98,2
1,9 „ „ + 1,1 „ „	103,5
1,7 „ „ + 1,3 „ „	107,6

Aus der Tabelle würde sich der Umschlagspunkt bei 1,1 ccm $^n/_{10}$-Lauge ergeben; denn von 85,0 bis 103,5 sieht man für 0,1 ccm $^n/_{10}$-Lauge ein stetiges Ansteigen von etwa 4 bis 6 Teilstrichen, während bei Punkt 103,5 eine Menge von 0,2 ccm nur noch ein Ansteigen um 4 Striche bewirkt. Es ist also in der Tat in einer Verdünnung von $^n/_{100}$-Säure und $^n/_{100}$-primärem Phosphat die Titration der freien Säure ziemlich genau gelungen.

Für unsere Zwecke mußten wir Stufentitrationen in Lösungen vornehmen können, die nicht mehr als 12 ccm $^n/_{10}$-Säure und 0,9 g primäres Phosphat enthielten, was einer Gesamtacidität von 78,0 ccm im Liter oder von 0,78 ccm in 10 ccm entspricht. Es wurde eine künstliche Lösung in den angegebenen Verhältnissen hergestellt. Von so gering konzentrierten Lösungen wurden für die folgenden Versuche stets etwa 50 ccm zum Titrieren verwandt. Bei Benutzung von 50 ccm Lösung mit der angegebenen geringen Acidität ist ein Ausbalancieren jedes einzelnen Versuches mit Wasser wie in den vorigen Reihen nicht mehr notwendig, und die ganze Manipulation läßt sich mit einer Probe durchführen; denn die Verdünnung durch

die zugesetzte Lauge spielt hier keine Rolle mehr für die Oberflächenspannung.

5 ccm Na-Heptylat + 50 ccm Säure-Phosphatgemisch

$^{n}/_{10}$-Lauge in ccm . .	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6
Oberflächenspannung	102,3	105,0	107,7	109,7	111,0	111,7	112,3

Der Umschlagpunkt würde bei diesem Versuch bei 111,0 liegen, also eine freie Säuremenge ergeben, die 0,4 ccm $^{n}/_{10}$-Lauge entspricht, statt der in der Lösung vorhandenen theoretischen 0,6 ccm. Diese Verschiebung des wahren Punktes liegt an der verhältnismäßig großen Menge des primären Phosphats zur freien Säure und an der Geringfügigkeit der Ausschläge.

Für physiologische Lösungen, auf die es bei diesen Titrationen letzten Endes ankam, kommt nun die Methode, selbst wenn sie in an und für sich oberflächenaktiven künstlichen Lösungen auch noch in den geforderten Konzentrationsverhältnissen deutbare Resultate gibt, nicht in Betracht. Hier kommen wir zu dem Punkt, der diese ganzen Titrationen mit oberflächenaktiven Stoffen als Indicator Farbentitrationsmethoden in vielen Fällen unterlegen macht. Physiologische Flüssigkeiten, wie Wasserauszüge aus Pflanzen, überhaupt aus Naturprodukten, sind nämlich als solche schon capillaraktiv durch die verschiedenartigsten Körper, unter denen besonders die höheren Eiweißabbauprodukte eine bedeutende Rolle spielen. Nun zeigen alle Tabellen, daß im Anfang, in der Nähe des Wasserwertes die Ausschläge für die Einheit freier oder in Freiheit gesetzter Fettsäure am größten sind, um bei den niedrigeren Spannungen immer mehr abzunehmen, so daß die Genauigkeit der Methode immer mehr zurückgeht, eine je geringere Eigenspannung die Flüssigkeit hat. Bei Lösungen, die z. B. eine Eigenspannung von 85,0 hatten, läßt sich mit Na-Heptylat als Indicator überhaupt kein Resultat mehr erzielen. Das zeigt folgender Versuch.

Äthylalkohol als solcher ist capillaraktiv. Eine wäßrige alkoholische Lösung zeigt also eine Spannungserniedrigung. Man kann demnach durch Alkoholzusatz zu künstlichen Salzlösungen jede gewünschte Spannung erzielen, ohne sonst verändernde chemische Eingriffe vorzunehmen.

12 ccm $^n/_{10}$-Salzsäure + 0,9 g primäres Phosphat wurden mit 100 ccm 96%igem Äthylalkohol zu 1 l aufgefüllt. Die Salzkonzentration war also dieselbe wie bei der vorigen Versuchsreihe:

Spannung der Lösung 83,5,
50 ccm Lösung + 5 ccm Na-Heptylat . . 83,2.

Es ist also durch die vorhandene Acidität überhaupt keine merkbare Erniedrigung der Spannung mehr eingetreten, also an eine Titration überhaupt nicht zu denken.

4. Nonylsäure.

Es wurde eine $^n/_{1000}$-Nonylsäure gegen Phenolphthalein hergestellt; diese Lösung ist fast gesättigt.

Oberflächenspannung der $^n/_{1000}$-Lösung 61,7.

	Oberflächenspannung
1,0 ccm $^n/_{1000}$-Nonylsäure + 9,0 ccm Wasser	113,5
1,5 „ „ + 8,5 „ „	107,2
2,5 „ „ + 7,5 „ „	90,2
1,0 „ „ + 5,0 „ „	77,3

Die Empfindlichkeit ist bei der Nonylsäure schon derartig gestiegen, daß jeder Tropfen $^n/_{10}$-Lauge, der zu der obigen $^n/_{1000}$-Lösung auf 50 ccm zugesetzt wird, einen merklichen Ausschlag herbeiführt.

(14 Tropfen $^n/_{10}$-Lauge = 0,5 ccm).
50 ccm $^n/_{1000}$-Nonylsäure.

$^n/_{10}$-Lauge in Tropfen	0	1	2	3	4	5	6
Oberflächenspannung	61,7	63,5	64,7	66,5	68,5	71,8	74,8
$^n/_{10}$-Lauge in Tropfen	7	8	9	10	11	12	13
Oberflächenspannung	78,0	83,0	88,7	99,7	108,7	112,7	113,0

Für die weiteren Versuche wurde wieder eine Indicatorlösung von Natriumnonylat dadurch hergestellt, daß etwa 20 ccm $^n/_{10}$-Natronlauge mit Nonylsäure neutralisiert und zu 500 ccm aufgefüllt wurden

5 ccm Na-Nonylat + 50 ccm Wasser . . 112,3.

Freie Säure enthielt also die Nonylatlösung nicht mehr. Andererseits war aber möglich, daß ein Überschuß an Lauge vorhanden war, was aus der Spannung 112,3 nicht ohne weiteres ersichtlich ist. Das ließ sich leicht feststellen durch Zusatz eines Tropfens $^n/_{10}$-Salzsäure. Es muß dann sofort ein Ausschlag erfolgen.

5 ccm Na-Nonylat + 50 ccm Wasser + 1 Tropfen Salzsäure 111,3.

Es ist allerdings ein Ausschlag erfolgt, der aber so gering ist, daß man einen ganz geringen Alkaliüberschuß annehmen muß. Um eine ganz einwandfreie Indicatorlösung zu haben, müßte man also noch eine Spur Nonylsäure hinzufügen; wir begnügten uns mit der hergestellten.

Einwirkung von $^n/_{10}$-Salzsäure.

5 ccm Na-Nonylat + 50 ccm Wasser

$^n/_{10}$-Salzsäure in ccm	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8
Oberflächenspannung	112,3	108,3	83,2	71,8	63,3	59,3	54,1	51,4	48,8

Bei Zusatz von 0,8 ccm $^n/_{10}$-Salzsäure trat Trübung ein infolge Ausscheidung von unlöslicher Nonylsäure. Es ist überhaupt eine allgemeine Erscheinung, daß Lösungen der höheren Fettsäurehomologen, selbst wenn sie zeitweilig Oberflächenspannungen von unter 50,0 annehmen, nicht stabil sind, sondern stets zu einem Wert um 50 herum zurückkehren. Die Übersättigung wird durch die Ausscheidung aufgehoben.

Die Ausschläge sind hier auch in den tieferen Oberflächenspannungszonen schon so groß, daß man auch bei selbst capillaraktiven Lösungen eine ziemliche Genauigkeit erwarten kann.

Einwirkung von $^n/_{10}$-Salzsäure.

5 ccm Na-Nonylat + 5 ccm 96%igen Alkohol + 45 ccm Wasser

$^n/_{10}$-Salzsäure in ccm	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6
Oberflächenspannung	84,2	82,0	77,8	73,4	66,3	62,5	57,5

$^n/_{10}$-Salzsäure in ccm	0,7	0,8	0,9	1,0
Oberflächenspannung	53,1	50,4	47,7	46,7

Bei 1,0 ccm findet starke Ausscheidung von Nonylsäure statt.

Einwirkung von $^n/_{10}$-primärem Phosphat.

5 ccm Na-Nonylat + 50 ccm Wasser.

$^n/_{10}$-prim. Phosphat in ccm	0,0	0,5	1,0	1,5	2,0
Oberflächenspannung . . .	112,0	97,0	88,3	85,5	82,2

Derselbe Versuch wurde mit durch Alkohol oberflächenaktiv gemachter Lösung vorgenommen.

5 ccm Na-Nonylat + 5 ccm 96 $^0/_0$igen Alkohol + 45 ccm Wasser

$^n/_{10}$-prim. Phosphat in ccm	0,0	0,5	1,0	2,0
Oberflächenspannung . .	84,7	82,5	81,7	81,2

Es war zu erwarten, daß sich hierbei kaum ein Ausschlag bemerkbar machen würde, da 2 ccm $^n/_{10}$-primäres Phosphat nur nach vorhergehendem Versuch eine Oberflächenspannung von 82,2 erreichen können.

Die Versuche zeigen, daß mit Natriumnonylat an eine Stufentitration freier Säure neben primärem Phosphat in durch mit capillaraktiven Stoffen niedrig gespannten Lösungen schwer zu denken ist. Die Empfindlichkeit ist noch zu gering.

5. Caprinsäure.

Die Caprinsäure ist bei gewöhnlicher Temperatur fest (Schmelzpunkt 30 ^{0}). Eine gesättigte Lösung wurde hergestellt, indem die feste Säure zu heißem Wasser zugegeben, dann abgekühlt und die ausgeschiedene Säure wieder abfiltriert wurde. Die Lösung war gegen Phenolphthalein etwa $^n/_{3000}$.

Oberflächenspannung der $^n/_{3000}$-Lösung 63,6.

Bei der Neutralisation mit $^n/_{10}$-Lauge ergaben sich folgende Zahlen.

50 ccm $^n/_{3000}$-Caprinsäure.

$^n/_{10}$-Lauge in Tropfen .	0	1	2	3	4
Oberflächenspannung .	63,6	75,4	93,3	113,7	114,3

(14 Tropfen $^n/_{10}$-Lauge = 0,5 ccm.)

Für die folgenden Versuche wurde eine Lösung von Na-Caprinat hergestellt durch Auflösen von 0,258 g Caprinsäure mit 15,4 ccm $^n/_{10}$-Lauge zu 500 ccm.

Oberflächenspannung der Lösung 110,7.

Daß die Lösung fast genau ausbalanciert war, zeigt der Ausschlag auf 1 Tropfen $^n/_{10}$-Salzsäure.

Einwirkung von $^n/_{10}$-Salzsäure.

5 ccm Na-Caprinat + 50 ccm Wasser.

$^n/_{10}$-Salzsäure in Tropfen	0	1	2	3	4	5	6
Oberflächenspannung	114,0	107,7	84,0	67,2	60,2	55,6	55,0

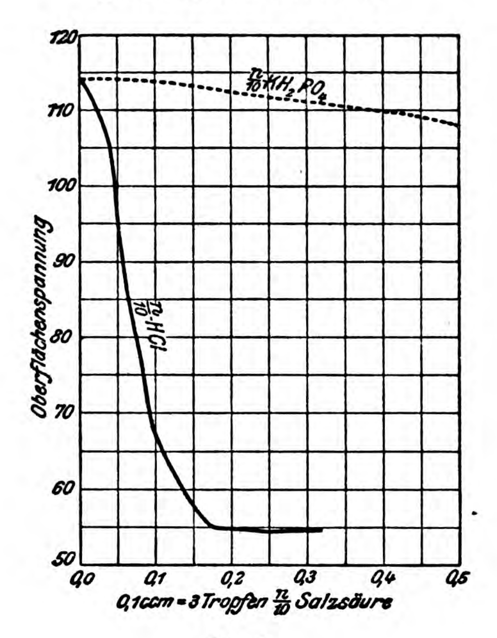


Fig. 1.

Diese Tabelle ist als Kurve (nicht punktiert) auf Fig. 1 aufgetragen. (Siehe auch Fig. 3.)

Der Versuch mit durch 96%igen Alkohol capillaraktiv gemachter Lösung ergab folgende Werte:

5 ccm Na-Caprinat + 5 ccm 96%igen Alkohol + 45 ccm Wasser.

n/10-Salzsäure in Tropfen	0	1	2	3	4	5	6
Oberflächenspannung	85,0	84,0	81,0	70,8	63,6	60,0	58,3

Es ist also hier schon vom 2. Tropfen ab ein deutlicher Ausschlag bemerkbar, während das bei Nonylsäure erst bei 5 bis 6 Tropfen zu sehen war.

Einwirkung von n/10-primärem Phosphat.

5 ccm Na-Caprinat + 50 ccm Wasser.

n/10-prim. Phospat in ccm	0	0,1	0,2	0,3	0,5	1,0	2,0	3,0
Oberflächenspannung .	114,5	114,0	112,4	111,0	108,0	99,0	93,3	91,0

Das Caprinat gibt nach der Tabelle weniger Ausschlag mit n/10-primärem Phosphat als das Nonylat, trotzdem die

gleiche Menge freier Caprinsäure weit oberflächenaktiver ist, als dieselbe Menge Nonylsäure. Es hängt das wahrscheinlich mit den Dissoziationskonstanten der beiden Säuren zusammen oder es sind geringe Verunreinigungen in den Präparaten vorhanden.

Mit Natriumcaprinat wurde der Versuch einer Stufentitration, die auf Seite 143 angegeben ist, wiederholt. Titriert wurde eine durch Alkohol capillaraktiv gemachte Lösung von Salzsäure und primärem Phosphat (12,0 ccm $^n/_{10}$-Salzsäure + 0,9 g primärem Kaliumphosphat + 100 ccm 96 $^0/_0$igen Alkohol zu 1 l aufgefüllt).

Oberflächenspannung der Lösung 81,2.

5 ccm Na-Caprinat + 50 ccm Lösung.

$^n/_{10}$-Lauge in ccm . .	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,55	0,6	0,65
Oberflächenspannung	58,2	58,0	58,6	58,8	63,5	79,0	82,2	83,0	83,5

50 ccm Lösung + 5 ccm Wasser 84,7.

Das Ansteigen der Spannung beginnt von 0,3 ccm an und geht in zwei größeren Intervallen bis auf 79, welcher Wert bei 0,5 ccm erreicht ist, um von hier an sich nur langsam dem überhaupt erreichbaren Punkte 84,7 zu nähern. Der wahre Wert der freien Säure muß also zwischen 0,5 und 0,6 ccm liegen. Man muß diesen Versuch als ziemlich gelungenes Resultat ansehen.

Der Verlauf dieser Stufentitration ist als Kurve in Fig. 2 eingetragen. Es ist deutlich der scharfe Knick im Verlaufe der

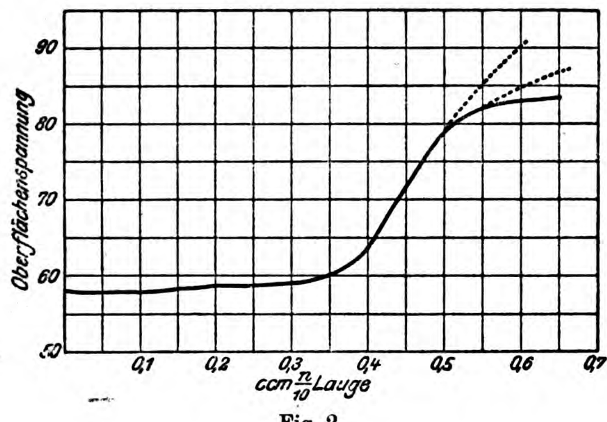


Fig. 2.

Kurve zwischen 0,5 und 0,6 zu sehen. Die punktierten Linien zeigen die Form der natürlich verlaufenden, nicht geknickten Kurven.

Als weiterer Versuch wurde eine Stufentitration in einem komplizierteren nichtcapillaraktiven Gemisch von freier Säure, primärem und sekundärem Phosphat vorgenommen. Das Gemisch bestand aus 2 ccm $^{n}/_{10}$-primärem K-Phosphat + 1 ccm sekundärem K-Phosphat + 1 ccm $^{n}/_{10}$-Milchsäure + 46 ccm Wasser.

Dieses Gemisch titrierte nach Lüers 2,95 ccm $^{n}/_{10}$-Lauge.

5 ccm Na-Caprinat + 50 ccm künstliche Lösung.

$^{n}/_{10}$-Lauge in ccm . . .	0	0,1	0,2	0,3	0,4
Oberflächenspannung .	81,2	92,8	100,7	104,3	108,3

Der Umschlagspunkt liegt zwischen 0,2 und 0,3; denn hinter 0,2 beginnt der Anstieg sich zu verlangsamen.

In capillaraktiver Lösung gelang dieselbe Titration nicht.

6. Undecylsäure.

Die gesättigte Lösung wird in der gleichen Weise wie die Caprinsäurelösung hergestellt. Gegen Phenolphthalein war dieselbe etwa $^{n}/_{9000}$.

Oberflächenspannung der $^{n}/_{9000}$-Lösung 64,6.

Bei der Neutralisation mit $^{n}/_{10}$-Lauge ergaben sich folgende Ausschläge.

50 ccm $^{n}/_{9000}$-Undecylsäure.

$^{n}/_{10}$-Lauge in Tropfen . .	0	1	2
Oberflächenspannung . .	64,6	97,3	113,3

Die für die folgenden Versuche nötige Undecylatlösung wurde aus 0,0744 g Undecylsäure durch Neutralisieren mit 4 ccm $^{n}/_{10}$-Lauge und Auffüllen zu 200 ccm hergestellt.

Einwirkung von $^{n}/_{10}$-Salzsäure.

5 ccm Na-Undecylat + 50 ccm Wasser.

$^{n}/_{10}$-Salzsäure in Tropfen	0	1	2	3
Oberflächenspannung .	113,3	91,2	60,3	51,0

Beim 3. Tropfen trat bereits Trübung ein.

Dieselbe Versuchsreihe in mit Alkohol capillaraktiv gemachter Lösung ergab folgendes Resultat.

5 ccm Na-Undecylat + 5 ccm 96%igem Alkohol + 45 ccm Wasser.

$^n/_{10}$-Salzsäure in Tropfen	0	1	2	3	4
Oberflächenspannung	82,0	80,0	62,8	57,4	Trübung

Die Empfindlichkeit ist also mit Undecylsäure als Indicator so gesteigert, daß selbst in ziemlich eigencapillaraktiven Lösungen auf 1 Tropfen Säure der Ausschlag eintritt, so daß die Methode damit an sehr empfindliche Farbindicatorenmethoden heranreicht.

Einwirkung von $^n/_{10}$ primärem Phosphat.

5 ccm Na-Undecylat + 50 ccm Wasser.

$^n/_{10}$-prim. Phosphat in ccm	0	0,2	0,4	1,0	2,0	3,0
Oberflächenspannung	113,3	100,0	95,7	85,7	74,6	61,2

Während wir gesehen hatten, daß das Caprinat in seiner Wirkung mit primärem Phosphat weit hinter dem Nonylat zurückblieb, trotzdem es ja 3 mal capillaraktiver ist als das letztere, so wird jetzt im Undecylat wieder die Empfindlichkeit des Nonylats erreicht, trotzdem es 9 mal so empfindlich wie Nonylsäure ist.

In mit Alkohol capillaraktiv gemachter Lösung ergaben sich folgende Werte:

5 ccm Na-Undecylat + 5 ccm 96%igem Alkohol + 45 ccm Wasser.

$^n/_{10}$-prim. Phosphat in ccm	0	0,5	1,0	2,0	3,0
Oberflächenspannung	82,2	81,8	81,8	78,0	73,2

Für Stufentitrationen von freier Säure und primärem Phosphat ist es an und für sich günstig, daß das Undecylat gegen primäres Phosphat wenig empfindlich ist, was eine ziemlich exakte Stufentitration zulassen muß.

Als nächster Versuch folgt die Titration der in dem Abschnitt Caprinsäure näher angegebenen capillaraktiven alkoholischen Säurephosphatmischung.

Oberflächenspannung der Lösung 84,7.

5 ccm Na-Undecylat + 50 ccm Lösung.

$^{n}/_{10}$-Lauge in ccm	0	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
Oberflächenspannung	51,8	51,0	51,6	67,5	86,2	85,0	85,0

Der Wert für freie Säure würde nach der Titration bei 0,7 statt bei 0,6 liegen.

Aus den vorliegenden Tabellen, die außer der Octylsäure von der Isovaleriansäure an bis zur Undecylsäure sämtliche unverzweigten Glieder der Fettsäurereihe umfassen, ist die Empfindlichkeit der Säuren als Titrationsindicatoren ohne weiteres zu ersehen. Die Empfindlichkeit der Undecylsäure als Indicator ist in der Tat so groß, daß sie wohl für die meisten Titrationen in gefärbten Flüssigkeiten, für die ja die Methode hauptsächlich bestimmt ist, ausreichend ist.

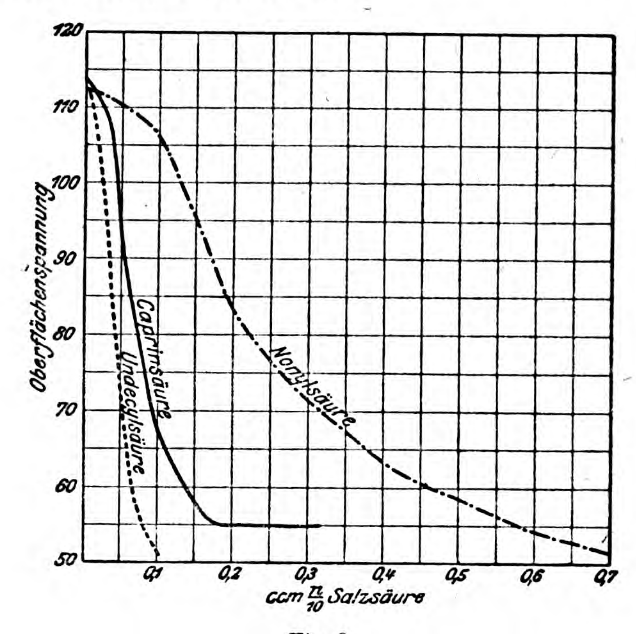


Fig. 3.

In Fig. 3 ist die Empfindlichkeit der Nonylsäure, Caprinsäure und Undecylsäure durch die drei eingetragenen Kurven vergleichend sichtbar gemacht.

Es handelt sich um die Frage, bei welcher Wasserstoff-

ionenkonzentration zeigt eine allmählich mit Lauge neutralisierte Undecylsäurelösung die größtmöglichste Oberflächenspannung, also annähernd den Wasserwert? Während bei der Titration nach Lürs der Punkt als Neutralpunkt gilt, bei dem sämtliches primäres Phosphat in sekundäres übergegangen ist, also eine reine Lösung von sekundärem Phosphat vorliegt mit einem $p_H = 9{,}0$, liegt der Neutralpunkt bei einer Titration mit capillaraktiver Säure bei einer viel höheren Wasserstoffionenkonzentration, nämlich beim wahren Neutralpunkt $p_H = 7{,}07$. Allerdings wird praktisch als Neutralpunkt sich ein solcher ergeben, bei dem noch eine größere Ionenkonzentration vorhanden ist als $p_H = 7{,}07$. Für eine annähernde Bestimmung des Punktes ohne direkte Messung der H-Ionen nach Michaelis, benutzten wir eine Mischung von primärem und sekundärem Phosphat, für die anderseitig bestimmte Tabellen vorhanden sind.

5 ccm	Na-Undecyl.	+2,2	ccm	$^n/_{10}$-K_2HPO_4	+0,0	ccm	$^n/_{10}$-K_2HPO_4	+47,8	ccm Wasser	70,0	Oberfl.-Sp.
5 „	„	+2,0	„	„	+0,2	„	„	+47,8	„ „	93,7	„
5 „	„	+1,8	„	„	+0,4	„	„	+47,8	„ „	102,7	„
5 „	„	+1,6	„	„	+0,6	„	„	+47,8	„ „	107,0	„
5 „	„	+1,4	„	„	+0,8	„	„	+47,8	„ „	109,3	„
5 „	„	+1,2	„	„	+1,0	„	„	+47,8	„ „	113,3	„
5 „	„	+1,0	„	„	+1,2	„	„	+47,8	„ „	114,0	„
5 „	„	+0,8	„	„	+1,4	„	„	+47,8	„ „	114,0	„

Als Neutralpunkt würde sich nach dieser Tabelle etwa das Verhältnis 1,2 : 1,0 bzw. 1,0 : 1,2 zwischen primärem und sekundärem Phosphat ergeben, was etwa einem $p_H = 6{,}8$ entspricht, einer Stelle, die mit dem Lackmusneutralpunkt $p_H = 6{,}97$ (nach Fels) ziemlich zusammenfällt.

Nach Lüers verbraucht das Gemisch 1,2 : 1,0 noch 1,1 ccm $^n/_{10}$-Lauge bis zum Lüersschen Neutralpunkt.

Aus allen angeführten Versuchen ist ersichtlich, daß die Titrationen am schärfsten in nicht selbst capillaraktiven Lösungen verlaufen. Da nun die physiologischen Lösungen, wie schon an anderer Stelle auseinandergesetzt wurde, stets capillaraktiv sind, so könnte man daran denken, auf irgendeine Weise die Aktivität aufzuheben oder wenigstens die Spannung dem Wasserwert zu nähern.

Durch irgendwelche geringe Mengen neutraler Salzzusätze

eine Abschwächung herbeizuführen, ist theoretisch nach Gibbs unmöglich; denn kleine Mengen eines gelösten Stoffes können wohl die Oberflächenspannung stark erniedrigen, nicht aber stark erhöhen: denn erhöht ein gelöster Stoff in kleinen Mengen die Oberflächenspannung, so nimmt die an sich schon kleine Konzentration desselben an der Oberfläche ab: Seine oberflächenspannungerhöhende Wirkung trägt also in sich ein entgegenwirkendes Moment.

Als einziger Weg zur Erhöhung der Oberflächenspannung capillaraktiver physiologischer Lösungen bleibt also nur der Weg der Entfernung der oberflächenaktiven Stoffe. Diese sind wohl in der Hauptsache hochmolekulare kolloidale Eiweißabbauprodukte, wie Albumosen und Peptone. Durch Ultrafiltration müssen sich diese entfernen lassen. Die Ergebnisse, die auf diesem Wege erzielt wurden und die erst eine richtige Anwendung der Titrationen mit capillaraktiven Stoffen als Indicator in Lösungen wie z. B. Bierwürzen, ermöglichen, allerdings auch mit gewissen Einschränkungen, werden in einer späteren Arbeit dargelegt werden.

Die Versuche bis zur Undecylsäure zeigen, daß die „Traubesche Regel“ auch für diese hohen Homologen noch gilt; denn es zeigt sich annähernd

	Oberflächenspannung
$^n/_{1000}$-Nonylsäure . .	61,7
$^n/_{3000}$-Caprinsäure . .	63,6
$^n/_{9000}$-Undecylsänre . .	64,6.

Derselbe Spannungswert wird also immer von einer 3mal so schwachen Säure erreicht, so daß das nächste Homologe stets 3mal so capillaraktiv ist wie das vorhergehende um ein Kohlenstoffatom ärmere.

Bei den Versuchen in der Fettsäurereihe hat sich ferner gezeigt, daß gesättigte Lösungen dieser Reihe stets annähernd dieselbe Spannung zeigen. Das ergeben folgende Beispiele an den Gliedern, die eine beschränkte Löslichkeit im Wasser haben.

	Oberflächenspannung
Isovaleriansäure . .	44,9
Capronsäure	47,8
Heptylsäure	48,9

	Oberflächenspannung
Nonylsäure	48,8
Caprinsäure	51,2
Undecylsäure . . .	51,0

Einen ganz ähnlichen Spannungswert zeigen die konzentrierten Säuren der Reihe ohne Wasserverdünnung.

	Oberflächenspannung
Essigsäure	42,6
Propionsäure . . .	43,5
Isovaleriansäure . .	42,1
Capronsäure	46,3
Heptylsäure	48,0

Die Messung der höheren Glieder wurde nicht mehr vorgenommen, weil sie zu viscos und teilweise bei gewöhnlicher Temperatur fest sind.

Zusammenfassung.

1. Die „Traubesche Regel" über die Zunahme der Oberflächenspannungserniedrigung wurde in der homologen Reihe der Fettsäuren bis zur Undecylsäure verfolgt.

2. Die Glieder der Fettsäurereihe von C_9 bis C_{11} bzw. deren Salze sind als Indicatoren für Titrationen nach Traube auf Grund von Oberflächenspannungsausschlägen im Umschlagsbereich des Lackmus oder Neutralrots ebenso empfindlich wie Farbindicatoren mit dem Vorteil, daß die Titration auch in gefärbten Lösungen geht und mit dem Nachteil, daß die Genauigkeit mit zunehmender Eigen-Oberflächenaktivität der zu titrierenden Lösungen abnimmt, was bei Farbentitrationen nicht in Betracht kommt.

3. Es ließ sich mit den angegebenen Fettsäuren als Indicator eine Stufentitration durchführen, die gestattet, freie Säure neben primärem Phosphat in Lösungen zu bestimmen.

Zur Kenntnis der Hefe Saccharomyces Thermantitonum.

Von

Hans Euler und Ingvar Laurin.

(Aus dem biochemischen Laboratorium der Hochschule Stockholm.)

(Eingegangen am 10. Juli 1919.)

Mit 2 Figuren im Text.

Im Jahr 1905 hat Johnson[1]) eine Hefe auf Eukalyptusblättern gefunden, die durch ihre Wärmebeständigkeit ausgezeichnet war.

A. Joergensen macht in der fünften Auflage seines bekannten Lehrbuches: „Die Mikroorganismen der Gärungsindustrie“ über diese Hefe folgende Angaben:

„Die Hefe ... entwickelte sich zufällig in einer Flasche, die bei einer Temperatur von 84° (?) infiziert worden war. Die Zellen waren also bei dieser hohen Temperatur nicht getötet worden. Bei einem später wiederholten Versuch stellte es sich heraus, daß man es hier mit einer Hefenart zu tun hatte, die bei hohen Temperaturen eben am besten arbeitet.

Für Gärungen im Großen benutzt Johnson eine Temperatur von 50° als Anstelltemperatur; die Würze braucht also nicht so stark abgekühlt zu werden wie sonst üblich, und die Hefe ist demnach in den Tropenländern anwendbar, indem Eismaschinen nicht erforderlich sind.

Bei Temperaturen unter 10° wächst sie nicht, und ihre Optimaltemperatur für Vermehrung und Gärung liegt zwischen 40 und 45°. Die Zellen sind klein und eiförmig; dieselben ballen sich zusammen und bilden Klumpen, die schnell zu Boden sinken, wo sie sich sehr festlegen; die Flüssigkeit klärt sich infolgedessen schnell.“

Außerdem liegen in der Literatur über Saccharomyces

---

[1]) Johnson, Journ. Inst. of Brewing 11, 1905. — Woch. f. Brauerei 23, Nr. 16, 1906.

Thermantitonum nur einige Angaben von P. Lindner[1]) hinsichtlich Assimilationsfähigkeit vor und einige gelegentliche Messungen über Gärungsgeschwindigkeit in Glucoselösung mit und ohne Phosphat[2]) und über Zuwachsgeschwindigkeit[3]).

Nachdem wir gewisse Unterschiede zwischen einer Unterhefe und einer Oberhefe hinsichtlich ihrer Temperaturempfindlichkeit festgestellt hatten, war für uns die Untersuchung einer Hefe, für die so ungewöhliche Optimal- und Maximalwerte der Temperatur angegeben werden, von besonderem Interesse.

Während die Versuche von Lindner und die oben erwähnten Messungen von Euler, Kullberg und Palm mit einer aus dem Berliner Institut für Gärungsgewerbe stammenden Kultur (Nr. 796) angestellt worden waren, verdanken wir die zu dieser Untersuchung benutzten Kulturen Herrn Direktor Alfred Joergensen, in dessen Institut die Hefe seit etwa 15 Jahren in gehopfter Bierwürze aufbewahrt worden war.

Unsere Messungen geben also die Eigenschaften dieser Kultur aus dem Joergensenschen Institut an. Sie sollen später durch Untersuchungen anderer Kulturen ergänzt werden.

I. Untersuchung der Inversionsfähigkeit.

4,8 g Rohrzucker wurden in 40 ccm Wasser gelöst und mit 10 ccm 4%iger Phosphatlösung $p_H = 4,3$ versetzt. Nach Kontrolle der Acidität 4,3 wurden 10 ccm einer Suspension von frischer Thermantitonum-Hefe (Trockengewicht 0,150 g) zugesetzt. Ein Parallelversuch wurde mit Zugabe von 1 ccm Toluol angestellt. Temperatur: 18°.

	Ohne Zusatz	Mit Toluol
$k\,10^4$	30,2 (Beil. 2)	30,8 (Beil. 5)

Es zeigt sich also zunächst, daß Toluol auf die Inversion durch die Thermantitonumhefe ebensowenig Einfluß ausübt wie auf diejenige der gewöhnlichen Kulturhefen.

---

[1]) Lindner, Wochenschr. f. Brauerei 28, 63, 1911. — Ebenda 29, 1912 sowie (nach freundl. Mitteilung) Jahrb. d. Vers.- u. Lehr-Brauerei f. 1904, S. 450.

[2]) Euler und Kullberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. 73, 85, 1911.

[3]) Euler und Palm, Zeitschr. f. physiol. Chem. 81, 68, 1912.

Eine Zellenzählung der angewandten Hefensuspension ergab:

$$2{,}9 \cdot 10^9 \text{ Zellen}$$

und somit ist

$$\text{Inv.} = \frac{k \times g \text{ Zucker}}{\text{Zellenzahl}} = \frac{30{,}2 \cdot 10^{-4} \times 4{,}8}{2{,}9 \cdot 10^9}. = 5 \cdot 10^{-12}$$

Für unsere Unterhefe H hatte sich als Mittel von vielen Versuchen ergeben[1])

$$\text{Inv.} = (10 \pm 2) \cdot 10^{-12}$$

und für unsere Oberhefe SB

$$\text{Inv.} = (3{,}0 \pm 0{,}5) \cdot 10^{-12}.$$

Saccharomyces Thermantitonum liegt also bezüglich der Inversionsfähigkeit zwischen unserer Unterhefe H und unserer Oberhefe SB.

Einfluß der Acidität.

Wir haben die Möglichkeit in Betracht gezogen, daß die optimale Acidität bei Saccharomyces Thermantitonum anders liegt als bei unseren Unter- und Oberhefen, und wir haben deswegen an den obigen Versuch eine Anzahl von anderen mit verschiedenem p_H angeschlossen. Wir erhielten die folgenden Inversionskonstanten (Beil. 1 bis 4).

$p_H =$	3,0	4,3	5,0	6,1
$k\,10^4 =$	24,2	30,2	31,2	(17,3)

Der Inversionskonstante für $p_H = 6{,}1$ liegt nur eine Ablesung zugrunde. Es wurde daher folgende weitere Versuchsreihe angestellt:

$p_H =$	4,3	6,5
$k\,10^4 =$	25,2	11,1
$k\,10^4$ reduz. auf 30,2 für $p_H = 4{,}3$	30,2	13,3

Aus den gewonnenen Werten erhält man die ausgezogene Kurve der Fig. 1.

Die punktierte Kurve ist nach einer noch nicht veröffentlichten Versuchsreihe von F. Emberg eingezeichnet.

---

[1]) Euler und Svanberg, Zeitschr. f. physiol. Chem. **106**, 201, 1919.

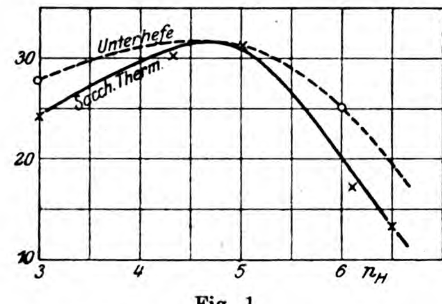


Fig. 1.

Nach diesen, allerdings wenigen Messungen an der Thermantitonum-Hefe würde das Aciditätsoptimum bei Saccharomyces Thermantitonum etwas ausgeprägter sein als bei Unterhefe.

II. Katalasewirkung.

Wie sich aus einer Untersuchung von Euler und Blix ergeben hat, läßt sich die Katalasewirkung der Hefen nicht so eindeutig feststellen wie die Wirkung der Saccharase. Es treten nämlich hier starke Aktivierungen auf, über deren Wesen noch nichts Endgültiges gesagt werden kann, die aber vermutlich mit einer Änderung des Quellungszustandes bzw. Dispersitätsgrades des Enzyms zusammenhängen.

Wir haben untersucht, ob und in welchem Grad die bei einer Oberhefe gefundenen Aktivierungserscheinungen auch bei Sacchararomyces Thermantitonum auftreten.

Zunächst ist der Einfluß der wäßrigen Suspension untersucht worden; Vergleichsversuche wurden jedesmal mit Hefe S B II angestellt.

Zu jedem Versuch wurden 10 ccm Hefensuspension angewandt:

Trockengewicht	Sacchar. Therm.	0,0885 g
„	S B II	0,051 g

Diese 10 ccm Suspension wurden mit je 10 ccm Natriumphosphatlösung ($p_H = 6{,}7$) versetzt und mit Wasser auf 50 ccm verdünnt. Diese Suspensionen zu je 50 ccm wurden 1 Stunde lang auf die unten angegebenen Temperaturen erhitzt und dann sofort abgekühlt.

Hierauf wurden 50 ccm einer etwa 0,02-molaren Wasserstoffsuperoxydlösung zugesetzt. Von Zeit zu Zeit wurden

Proben von je 10 ccm der Suspension entnommen und mit ca. 0,007 n-$KMnO_4$-Lösung titriert (Beilagen, Versuchsreihe 2).

	1 Stunde erhitzt auf . .	—	57,8°	69,4°
$k\,10^4$	S B II	58	540	0
	Sacchar. Therm. .	65	7	0

Die hohen Temperaturen waren in Rücksicht auf die in der Literatur angegebene Temperaturtoleranz gewählt worden. Der folgende Versuch bezieht sich auf niedrigere Wärmegrade, 50 und 55°.

Diesmal wurden je 10 ccm Suspension mit je 5 ccm Phosphatlösung gemischt, auf 50 ccm verdünnt, und von dieser Mischung wurden nach dem Erhitzen 20 ccm mit 50 ccm der 0,02 n-Wasserstoffsuperoxydlösung versetzt. Von Zeit zu Zeit wurden je 5 ccm mit Permanganat titriert.

Trockengew. der angew. Suspension v. S B II . . . . 0,035 g
" " " " v. Sacchar. Therm. 0,050 g

Wir fanden folgende Konstanten (Beilagen, Versuchsreihe 3).

1 Stunde erhitzt auf	—	50,2°	54,9°
S B II	59	75	256
Sacchar. Therm. . .	49	31	15

Bei keiner dieser beiden Versuchsreihen zeigt sich also eine Aktivierung der Thermantitonumhefe, während die gleichzeitig erhitzte Oberhefe S B II aktiviert wird.

Einwirkung von Toluol und Chloroform.

Es wurden zu jedem Versuche gemischt:

15 ccm Hefensuspension (Gehalt: 0,0885 g Trockenhefe), dazu 10 ccm Natriumphosphat als Puffer und 50 ccm der 0,02 n-Wasserstoffsuperoxydlösung. p_H während der Reaktion = 6,1. (Beilagen, Versuchsreihe 4.)

	Ohne Protoplasmagift	Mit Toluol	Mit Chloroform
$k \cdot 10^4$	158	193	506

Es hat also hier bei der Thermantitonumhefe eine Aktivierung von über 300% stattgefunden.

III. Gärungsversuche.

Die Gärungen wurden in Lösungen gemessen von der folgenden Zusammensetzung:

6 g Rohrzucker entsprechend 6,32 g Invertzucker,
40 ccm 8 %ige Natriumphosphatlösung ($p_H = 4,4$),
50 ccm Hefenwasser (Trockengew. 1,7 %) bzw. 50 ccm Wasser,
40 ccm Wasser,
20 ccm Hefensusp., teils Sacchar. Therm. Trockengew. 0,425 g
" SB II, Trockengew. 0,500 g.

150 ccm Mischung.

Zu jedem Versuch wurden Parallelversuche angestellt zur Kontrolle, ferner zur Zellenzählung usw.

Barometerstand: 755 mm. Druck von CO_2 (Korr. für Wasserdampf) 738 mm.

Temperatur: 20°.

Saccharomyces Thermantitonum. 35°.

Stunden	Ohne Hefenwasser CO_2 ccm	Ohne Hefenwasser Zellenzahl	Mit Hefenwasser CO_2 ccm	Mit Hefenwasser Zellenzahl
0	0	$1,5 \cdot 10^{10}$	0	$1,5 \cdot 10^{10}$
1	92	—	135	—
$1^1/_2$	155	—	244	—
2	238	—	381	—
$2^1/_2$	311	—	491	—
3	402	—	650	—
$3^1/_2$	473	—	820	—
4	549	—	1004	—
$4^1/_2$	638	—	1179	—
5	724	—	1303	—
6	853	—	1366	—
7	1003	—	1387	—
8	1142	—	1387	$2,0 \cdot 10^{10}$
9	1263	$1,6 \cdot 10^{10}$	Reduktion n. Bertrand: nach 8 Std. 0,06 g Invertzucker. Also vergor. Zucker 6,32 — 0,06 = 6,26 g	—
10	1374	—		—
21	1494	—		—
$21^1/_2$	1494	$1,8 \cdot 10^{10}$	—	—
	Reduktion n. Bertrand: Spuren			

	g	Proz. v. vergor. Zucker	g	Proz. vom vergorenen Zucker
CO_2	2,68	42,4	2,48	39,7
Äthylalkohol	2,58	40,9	Bestimmung mißglückt. Ein Teil des Zuckers vermutlich assimiliert	

Hefe S B II. Ohne Hefenwasser. 35°.

S tunden	CO_2 ccm	Zellenzahl	Stunden	CO_2 ccm	Zellenzahl
0	0	$2{,}3 \cdot 10^{10}$	6	571	—
1	64	—	7	691	—
$1^1/_2$	106	—	8	778	—
2	169	—	9	860	—
$2^1/_2$	223	—	10	954	—
3	281	—	$20^1/_2$	1036	—
$3^1/_2$	335	—	21	1079	—
4	389	—	26	1167	—
$4^1/_2$	441	—	28	1180	—
5	489	—	$28^1/_2$	1183	$2{,}2 \cdot 10^{10}$

Am Schluß der Gärung wurde nach Bertrand auf Zucker geprüft; es trat nur spurenweise Reduktion ein.

Saccharomyces Thermantitonum. 40°.

Stunden	Ohne Hefenwasser		Mit Hefenwasser	
	CO_2 ccm	Zellenzahl	CO_2 ccm	Zellenzahl
0	0	$1{,}5 \cdot 10^{10}$	0	$1{,}5 \cdot 10^{10}$
1	87	—	115	—
$1^1/_2$	172	—	219	—
2	251	—	339	—
$2^1/_2$	326	—	484	—
3	417	—	639	—
$3^1/_2$	482	—	781	—
4	563	—	968	—
$4^1/_2$	631	—	1125	—
5	708	—	1250	—
6	811	—	1430	—
7	978	—	1488	—
8	1112	—	1505	—
9	1219	$(1{,}3 \cdot 10^{10})$	1509	$1{,}35 \cdot 10^{10}$
10	1317	—	Nach 9 Std. Redukt.	—
$20^1/_2$	1476	—	nach Bertrand:	—
21	1479	$1{,}5 \cdot 10^{10}$	deutliche Spuren	—

	g	Proz. v. vergor. Zucker	g	Proz. v. vergor. Zucker
CO_2	2,65	41,9	2,70	42,8
Äthylalkohol	2,65	41,9	2,82	44,7

Hefe S B II. Ohne Hefenwasser. 40°.

Stunden	CO_2 ccm	Zellenzahl	Stunden	CO_2 ccm	Zellenzahl
0	0	$2{,}3 \cdot 10^{10}$	$4^1/_2$	501	—
1	68	—	5	541	—
$1^1/_2$	134	—	6	654	—
2	181	—	7	770	—
$2^1/_2$	247	—	8	880	—
3	297	—	9	979	—
$3^1/_2$	371	—	10	1068	$2{,}25 \cdot 10^{10}$
4	438	—	20	—	—

Die Bestimmung des CO_2-Volumens nach 20 Stunden mißglückte. Nach 20 Stunden wurde nach Bertrands Methode gefunden: 0,54 g Invertzucker, also vergoren 5,78 g Invertzucker.

Gefunden Äthylalkohol: 2,17 g = 37,6 % vom vergor. Zucker. Bei dieser hohen Gärungstemperatur ist offenbar die Vergärung des Zuckers nicht vollständig, wobei die Ausbeute an CO_2 und Alkohol geringer ist, als dem Verbrauch an Zucker entspricht. Eine Durchsicht der obigen Zahlen zeigt folgendes:

1. Obgleich bei Saccharomyces Thermantitonum bei 40° kein Zuwachs der Zellenzahl mehr eintritt, so übt das Hefenwasser doch einen bedeutenden Einfluß — bis etwa 100 % — auf die Gärungsgeschwindigkeit aus. Dieselbe dürfte in erster Linie dem Co-Enzym der Hefe zuzuschreiben sein. Wir wollen darauf aufmerksam machen, daß das Co-Enzym aus Oberhefe gewonnen ist, also einer anderen Hefe als der aktivierten.

2. Bei 35° ist die Gärungsgeschwindigkeit (ohne Hefenwasser) von Saccharomyces Thermantitonum per Einheit der Zellenzahl etwa doppelt so groß wie bei der Oberhefe S B II.

Wir geben die Kubikzentimeter CO_2 für 2, 4 und 6 Stunden an, reduziert auf die gleiche Zellenzahl $1{,}5 \cdot 10^{10}$.

Hefe	Kubikzentimeter CO_2 nach		
	2 Std.	4 Std.	6 Std.
Sacch. Therm.	238	549	853
S B II	112	254	373

3. Die Gärungsgeschwindigkeiten von Saccharomyces Thermantitonum unterscheiden sich bei 35° und 40° wenig voneinander, während S B II noch eine deutlichere Steigerung der

Gärungsgeschwindigkeit zeigt. Da Saccharomyces Thermantitonum ja gerade wegen seiner Gärfähigkeit bei höheren Temperaturen als in den Tropen verwendbar beschrieben wurde, ist unser Befund auffallend, und es dürften also bei unserer Kultur Änderungen bezüglich der Temperaturtoleranz während des 15jährigen Aufenthaltes bei einer mittleren Temperatur von etwa 15° eingetreten sein.

IV. Zuwachsversuche.

Als Nährlösung, in welche die Hefe eingeimpft wurde, diente Hefenwasser (Trockensubstanz 1,0%), dem 2% Rohrzucker zugesetzt waren. In zwei Parallelversuchen wurde die Acidität der Nährlösung bestimmt; die eine Probe gab $p_H = 6,4$, die andere $p_H = 6,6$; die Nährlösung war also sehr wenig sauer.

Bei der im folgenden angegebenen Versuchsreihe wurden alle Kulturkolben gleichzeitig angesetzt und standen nach dem Einimpfen zunächst 26 Stunden bei Zimmertemperatur (20°). Dann wurde die erste Zellenzählung vorgenommen (0 Stunden) und die Kolben wurden unmittelbar in die verschiedenen Thermostaten 20°, 25 bis 27°, 30,5° und 38° gebracht.

Von Zeit zu Zeit wurden den Kolben nach Herstellung einer homogenen Suspension einige Tropfen entnommen und die Zellenzählung wurde in einer Thoma-Zeißschen Kammer angestellt.

Wir geben im folgenden die Beobachtungen einer Versuchsreihe an, die Zellenzahl umgerechnet per Kubikmillimeter, ferner die Vermehrungskonstanten

$$k = \frac{1}{t} \log \frac{a_0}{a_t},$$

wo t die Zeit in Stunden, a_t die Zellenzahl zur Zeit t und a_0 die Zellenzahl zur Zeit 0 bedeutet.

a) Temperatur 20°.

Stunden	Zellenzahl	$k \cdot 10^3$	$k \cdot 10^3$, Mittel
0	$9,45 \cdot 10^3$	—	
6	$2,30 \cdot 10^4$	64	
$8^1/_2$	$3,18 \cdot 10^4$	62	63
21	$9,14 \cdot 10^4$	(48)	
79	$9,10 \cdot 10^4$	—	

b) Temperatur 25 bis 27°.

Stunden	Zellenzahl	$k \cdot 10^3$	$k \cdot 10^3$, Mittel
0	$5{,}02 \cdot 10^3$	—	
4	$1{,}34 \cdot 10^4$	107	
8	$3{,}07 \cdot 10^4$	98	103
21	$1{,}02 \cdot 10^5$	62	
	$0{,}99 \cdot 10^5$	—	

c) Temperatur 30,5°.

Stunden	Zellenzahl	$k \cdot 10^3$	$k \cdot 10^3$, Mittel
0	$6{,}20 \cdot 10^3$	—	
4	$2{,}54 \cdot 10^4$	153	
8	$5{,}18 \cdot 10^4$	116	(135)
21	$1{,}00 \cdot 10^5$	(59)	
79	$1{,}11 \cdot 10^5$	—	

d) Temperatur 38°.

Stunden	Zellenzahl	$k \cdot 10^3$
0	$1{,}03 \cdot 10^4$	—
21	$1{,}00 \cdot 10^4$	0
79	$1{,}00 \cdot 10^4$	0

Bei einer vorhergehenden Versuchsreihe, in der die Kolben unmittelbar nach der Impfung in die Thermostaten gebracht worden waren, hatte bei 40° eine Zellvermehrung bis zu etwa $1{,}0 \cdot 10^3$ per Kubikmillimeter stattgefunden.

Bei 35° zeigt die untersuchte Thermantitonum-Hefe noch einen kräftigen Zuwachs, während z. B. unsere Oberhefe SB II bei dieser Temperatur keinerlei Wachstum mehr äußert.

Wie immer ist hier das Maximum der Zuwachsgeschwindigkeit von der in Betracht gezogenen Vermehrungszeit abhängig; je kürzer (innerhalb gewisser Grenzen) diese Zeit gewählt wird, um so höher liegt die Maximaltemperatur und um so größer ist der Wert der maximalen Geschwindigkeit. Nimmt man die Mittelwerte aus den nach 4 Stunden und nach 8 Stunden bestimmten Konstanten, so erhält man Kurve I der folgenden Figur 2.

Eine in gewissem Sinne richtigere Vorstellung von der Vermehrungsfähigkeit der Hefe bei verschiedenen Temperaturen bekommt man, wenn man die Größen der Ernten in Betracht zieht (Kurve II der gleichen Figur).

Jedenfalls geht aus unseren Versuchen hervor, daß die von uns untersuchte Kultur der Thermantitonum-Hefe bei 40° höchstens ganz kurze Zeit und in recht geringem Grade gewachsen ist.

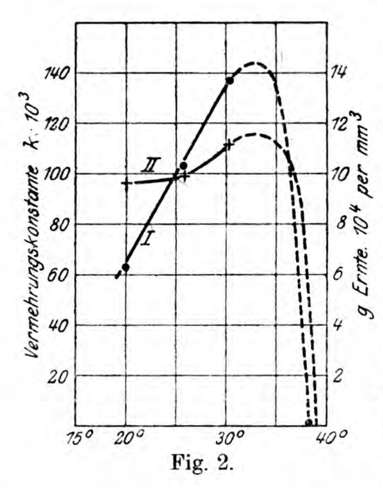


Fig. 2.

Für den ursprünglichen Stamm wird eine Optimaltemperatur für Vermehrung und Gärung zwischen 40 und 44° angegeben.

Da keine Veranlassung vorliegt, an der Richtigkeit der für die ursprüngliche Reinkultur gemachten Angaben über Saccharomyces Thermantitonum zu zweifeln, so finden wir, daß die im Institut von Jörgensen bei Zimmertemperatur während etwa 15 Jahren verwahrte Kultur eine erhebliche Änderung hinsichtlich Optimaltemperaturen bzw. Wärmetoleranz erfahren hat. Es dürfte kaum zweifelhaft sein, daß es sich hier um Anpassung der ursprünglich an höhere Temperaturen gewöhnten Hefe an die mittlere Zimmertemperatur der Aufbewahrungsstelle im Institut von A. Jörgensen handelt, wenn auch die veränderten Lebensbedingungen im übrigen in Betracht zu ziehen sind[1]).

Temperaturanpassungen sind bei Bacterien und anderen Mikroorganismen in ziemlich großer Anzahl bekannt. Auch für Hefen hat man solche Temperatur-Anpassungen beschrieben[2]).

Quantitative Bestimmungen an Hefen dürften in dieser Hinsicht noch in sehr geringer Anzahl vorliegen. Wenn auch in vorliegendem Falle die Eigenschaften der ursprünglichen Kultur nicht so eingehend festgelegt sind als wünschenswert wäre, so ist hiermit doch der Anfang zu einer Serie von Anpassungsversuchen gemacht, durch die festere Anhaltspunkte über Be-

[1]) Siehe hierzu z. B. Thiele, Dissertation. Leipzig 1896.

[2]) Schmidt-Nielsen, Centralbl. f. Bakt. II. Abt. 9, 145, 1902.

dingungen und Grenzen der Temperaturanpassung gewonnen werden sollen.

Zusammenfassung.

An einer aus der Sammlung von Alfr. Jörgensen stammenden Kultur von Saccharomyces Thermantitonum (Johnson) wurden einige Enzymwirkungen, ferner das Gärungsvermögen und der Zellenzuwachs untersucht.

1. Die Inversionsfähigkeit bei optimaler Acidität wurde gefunden zu

$$\text{Inv.} = \frac{k \times \text{g Zucker}}{\text{Zellenzahl}} = 5 \cdot 10^{-12}.$$

Für Unterhefe H bzw. Oberhefe S B II hat Inv. die Werte:

$$(10 \pm 2) \cdot 10^{-12} \text{ bzw. } (3{,}0 \pm 0{,}5) \cdot 10^{-12}.$$

2. Die Katalasewirkung ist gegeben durch die für frische Hefe erhaltenen Konstanten (per 0,1 g Trockengewicht)

Acchar. Therm. . . . $k \cdot 10^4 = 73$,

S B II . . . . $k \cdot 10^4 = 114$.

Wärmeaktivierung der Katalasewirkung wurde bei der Thermantitonum-Hefe nicht gefunden, dagegen Aktivierung durch Toluol und Chloroform (ca. 300 $^0/_0$; schwächer als bei Oberhefe S B II).

3. Die Gärungsgeschwindigkeit bei 35° ist bei unserer Thermantitonum-Hefe per Einheit der Zellenzahl etwa doppelt so groß als für unsere Oberhefe S B II. Bei 40° ist die Gärungsgeschwindigkeit der Thermantitonum-Hefe nur unbedeutend verschieden von derjenigen bei 35°. Bei 40° tritt schon eine allmähliche Schwächung der Gärkraft ein.

4. Der Zuwachs unserer Hefe zeigt ein Maximum zwischen 35° und 40° (Fig. 2).

Die untersuchte Kultur von Saccharomyces Thermantitonum weicht hinsichtlich der charakteristischen Temperaturpunkte erheblich von der ursprünglichen 1905 gezüchteten Kultur ab. Vermutlich ist eine Anpassung an niedrigere Temperatur eingetreten.

Nachschrift bei der Korrektur: Wie Herr Prof. P. Lindner uns mitzuteilen die Freundlichkeit hatte, liegen im Institut für Gärungsgewerbe in Berlin an Sacch. Thermantitonum ebenfalls einige ähnliche (nicht veröffentlichte) Beobachtungen vor, welche auf eine Anpassung dieser Hefe an niedrigere Temperatur hindeuten.

Versuchsreihe 1. Inversionstemperatur 17°.

Versuchsbedingungen	Minuten	Drehung	$k \cdot 10^4$	$k \cdot 10^4$ Mittel
$p_H = 3,0$ (Beil. 1)	0	2,55	—	
	30	2,05	22,7	
	45	1,79	24,0	
	62	1,48	26,0	24,2
	∞	−0,90	—	
$p_H = 4,3$ (Beil. 2)	0	2,55	—	
	20	2,13	28,0	
	30	1,89	30,7	
	45	1,58	31,8	30,2
$p_H = 5,0$ (Beil. 3)	0	2,55	—	
	20	2,09	31,0	
	30	1,89	30,7	
	45	1,58	31,8	31,2
$p_H = 6,1$ (Beil. 4)	0	2,55	—	
	30	2,16	17,3	17,3
	45, 60	wurden durch ein Unglück zerstört		
$p_H = 4,3$, mit Toluol (Beil. 5)	0	2,55	—	
	20	2,11	29,5	
	30	1,87	31,7	
	45	1,60	31,7	30,8

Versuchsreihe 2. Katalasewirkung.

Vorbehandlung	Minuten	$KMnO_4$ ccm	$k \cdot 10^4$	$k \cdot 10^4$ Mittel
S B II Nicht erhitzt	0	15,3	—	
	20	11,5	62	
	40	8,7	61	
	60	7,2	55	
	75	6,15	53	58
S B II 1 Stunde auf 57,8° ± 0,1 erhitzt	0	16,4	—	
	28	0,5	540	540
S B II 1 Stunde auf 69,4° ± 0,1 erhitzt	0	17,2	—	
	20	16,5	—	
	40	16,1	—	
	60	16,4	—	
	75	16,3	—	
Sacchar. Therm. Nicht erhitzt	0	17,0	—	
	20	12,4	69	
	40	9,2	67	
	60	7,1	63	
	75	5,75	63	65
Sacchar. Therm. 1 Stunde auf 57,8° ± 0,1 erhitzt	0	17,6	—	
	20	16,9	9	
	40	16,5	7	
	60	16,3	6	
	75	16,3	5	7

Versuchsreihe 2 (Fortsetzung).

Vorbehandlung	Minuten	$KMnO_4$ ccm	$k \cdot 10^4$	$k \cdot 10^4$ Mittel
Acchar. Therm. 1 Stunde auf 69,4° ± 0,1 erhitzt	0	16,4?	—	—
	20	17,0	0	—
	40	16,8	0	—
	60	17,0	0	0

Versuchsreihe 3.

Vorbehandlung	Minuten	$KMnO_4$ ccm	$k \cdot 10^4$	$k \cdot 10^4$ Mittel
S B II Nicht erhitzt	0	11,3	—	
	20	8,6	59	
	30	7,5	59	
	40	6,6	59	59
S B II 1 Stunde auf 50,2° ± 0,2 erhitzt	0	11,2	—	
	20	8,05	72	
	30	6,7	74	
	40	5,45	78	75
S B II 1 Stunde auf 54,9° ± 0,3 erhitzt	0	11,1	—	
	10	6,15	257	
	30	1,9	255	
	40	1,5	251	256
Acchar. Therm. Nicht erhitzt	0	14,7	—	
	30	10,8	44	
	45	8,65	51	
	60	7,15	52	49
Acchar. Therm. 1 Stunde auf 50,2° ± 0,2 erhitzt	0	14,9	—	
	30	11,75	34	
	45	10,8	30	
	60	9,9	30	31
Acchar. Therm. 1 Stunde auf 54,9° ± 0,3 erhitzt	0	14,7	—	
	30	13,2	15	
	45	12,6	15	
	60	12,0	15	15

Versuchsreihe 4.

Versuchsbedingungen	Minuten	$KMnO_4$ ccm	$k \cdot 10^4$	$k \cdot 10^4$ Mittel
Ohne Gift	0	13,5	—	
	20	6,5	159	
	31	4,2	163	
	40	3,15	158	
	51	2,25	153	158
Mit Toluol	0	13,8	—	
	20	5,9	185	
	31	3,8	181	
	40	2,25	197	
	51	1,1	208	193
Mit Chloroform	0	13,8	—	
	10	4,7	468	
	25	0,6	544	506

Über den quantitativen Nachweis des Tyrosins mittels der Millonschen Reaktion.

Von

Moriz Weiß (Wien-Gleichenberg).

(Eingegangen am 12. Juli 1919.)

Die Grundlage der von mir ausgearbeiteten Methode des quantitativen Tyrosinnachweises ist eine von O. Nasse angegebene Modifikation der Millonschen Probe. O. Nasse fügt zu der zu untersuchenden Flüssigkeit etwas 10%ige Quecksilberoxydnitratlösung, dann einige Tropfen 5%ige Natriumnitritlösung hinzu und kocht. Ich verwende genaue Mengen der zu untersuchenden Flüssigkeit und der beiden Reagenzien, die ich aber abgeändert habe.

Erforderlich sind mehrere gleich tiefe, am besten geeichte Probierröhrchen und einige Pipetten. Als Quecksilbersalz verwende ich Quecksilberoxydsulfat in der in jedem Laboratorium vorhandenen, auch bei der Tryptophandarstellung z. B. verwendeten 10%igen Lösung in 5%iger H_2SO_4. Die Natriumnitritlösung ist $^1/_2$%ig und in brauner Flasche unbegrenzt haltbar. Mittels Pipette werden 3 ccm der zu untersuchenden Flüssigkeit in ein Probierröhrchen gebracht, dazu kommen genau 2 ccm der Hg-Sulfatlösung und aus einem Tropffläschchen drei Tropfen der $^1/_2$%igen $NaNO_2$-Lösung. Man mischt und erhitzt über einer nicht zu starken Flamme — am besten Spiritusbrenner — bis die Flüssigkeit gerade zu sieden beginnt. Hierauf stellt man die Probe beiseite. Innerhalb von 5 Minuten — bei stärkerem Tyrosingehalte früher — zeigt sich die charakteristische rote Farbe der Millonschen Probe. Gleichzeitig mit dieser Probe macht man analog die Reaktion mit einer Tyrosinlösung 1 : 50000. Diese Lösung bezeichne ich als Standardlösung, ihre

Probe als Standardprobe. Die Tyrosinlösung bereitet man sich, indem man 0,1 g reines Tyrosin in 95 ccm H_2O + 5 ccm 10⁰/₀-iger reiner Sodalösung auflöst. Bei Zusatz von etwas Chloroform ist diese 1⁰/₀₀ige Lösung in brauner Flasche sehr gut haltbar. Aus dieser Lösung bereitet man sich eine 1 : 10000, aus dieser wieder eine 1 : 50000; beide bewahrt man am besten in brauner Flasche und konserviert sie mit $CHCl_3$. Die Lösungen sind unbrauchbar, wenn bakterielle Zersetzung eingetreten ist, was man an eingetretener Trübung erkennt.

Die in der beschriebenen Weise ausgeführte Millonsche Probe mit der 1 : 50000 Tyrosinlösung zeigt folgendes Verhalten: Beim Erwärmen bis eben zum Sieden färbt sich die Probe fast gar nicht. Erst beim Stehen tritt die charakteristische Färbung auf, die innerhalb von 5 Minuten ihr Maximum erreicht. Die Farbe hält sich mindestens $^1/_2$ Stunde sehr gut, um erst später allmählich abzublassen. Die Millonsche Probe mit dieser Lösung gibt bei richtiger Ausführung keinen oder nur verschwindend geringen Niederschlag.

Das Prinzip der quantitativen Tyrosin-Bestimmung besteht nun darin, daß man die zu untersuchende Flüssigkeit so lange verdünnt, bis die letzte Verdünnung eine der Standardprobe gleiche oder nahe Millonsche Reaktion gibt. Dabei kann man das Verhältnis der Färbung einer stärkeren Konzentration als der 1 : 50000 zur Standardprobe als Maßstab für die vorzunehmende Verdünnung benützen. Wenn z. B. die untersuchte Flüssigkeit eine Millonsche Reaktion gab, die dreimal verdünnt werden muß, um in der Farbenbreite der Standardprobe zu liegen, so verdünnt man die Ausgangsflüssigkeit dreimal und stellt dann die Millonsche Probe an. Hat man dann wieder vielleicht stärkeren Ausfall der Probe, so verdünnt man abermals, bis man der Standardprobe entsprechende Millonsche Reaktion erhält. Ergibt sich, was man mit einem Dubosq-Colorimeter kontrollieren kann, in der Regel aber mit freiem Auge auch erkennt, gleiche Farbe der Millonschen Probe, so hat man schließlich eine 1 : 50000 Tyrosinlösung vor sich. Würde z. B. die auf einen Tyrosingehalt zu prüfende Flüssigkeit = 30 ccm zuerst 15 mal, nachher die 15 malige Verdünnung 5 mal verdünnt worden sein, um eine der Standardprobe genau gleiche

Probe zu ergeben, so ist der Tyrosingehalt der Ausgangsflüssigkeit $x = \frac{30 \cdot 15 \cdot 5 \cdot 1}{50000} = 0{,}045$ Tyrosin.

Man kann die Hilfe des Colorimeters bei einiger Übung entbehren. Die Farbe der Reaktion ist so charakteristisch, daß bei Betrachtung in gleich tiefen Röhrchen der feinste Unterschied auffällt. In einer gewissen Breite besteht Proportionalität zwischen der Intensität der Millonschen Probe und dem Tyrosingehalte. So wurde bei 4 mal stärkerem Tyrosingehalte auch eine 4 mal stärkere Millonsche Reaktion gefunden. Man könnte daher in dieser Breite ohne weiteres mittels eines Colorimeters den Tyrosingehalt bestimmen. Doch habe ich immer auch noch die weiteren Verdünnungen zur Kontrolle vorgenommen. Würden z. B. 50 ccm einer zu prüfenden Flüssigkeit bei 32 facher Verdünnung im Colorimeter den Wert von $\frac{20}{12}$ gegenüber der Standardprobe ergeben, so ist der Tyrosingehalt $x = \frac{50 \cdot 32 \cdot 20 \cdot 1}{12 \cdot 50000} = 0{,}053$. Ähnlich wäre in der Berechnung mit $\frac{8}{5}$ zu multiplizieren, wenn man in der Eprouvette die letzte Tyrosinprobe noch von 5 auf 8 ccm mit Wasser verdünnen mußte, um die Farbenintensität der Standardprobe zu erhalten.

Überschreitet die Dauer der Bestimmung $^1/_2$ Stunde, so stellt man sich eine frische Standardprobe her. In der Regel aber wird bei einiger Übung eine Bestimmung kaum länger als $^1/_4$ Stunde in Anspruch nehmen.

Folgende Belege mögen die Brauchbarkeit der Methode erläutern:

1. 6 ccm einer 1 : 10000 Tyrosinlösung wurden 4 mal verdünnt = 24 ccm und der mir zunächst unbekannte Tyrosingehalt, der erst später berechnet wurde, mittels meiner Methode bestimmt. Von den 24 ccm wurden, wie oben beschrieben, 3 ccm genommen; dazu kamen 2 ccm der Hg-Sulfatlösung und 3 Tropfen der Natriumnitritlösung. Gleichzeitig wurde mit der Standardtyrosinlösung (1 : 50000) dieselbe Probe vorgenommen, über einem Spiritusbrenner bis gerade zum Sieden erhitzt und beide für 5 Minuten beiseite gestellt. Es ergab sich in der untersuchten Flüssigkeit stärkere Reaktion als in der Standardprobe. Nun wurden 2 ccm der obigen 24 ccm zweimal verdünnt und mit 3 ccm dieser zweimaligen Verdünnung die Probe angestellt. Dieselbe war schwächer

als die Standardprobe, ebenso gab die $1\frac{1}{2}$malige Verdünnung schwächere Färbung. Die $1\frac{1}{4}$malige Verdünnung entsprach nach 5 Minuten sowohl makroskopisch wie colorimetrisch genau der Standardprobe.

Als Tyrosingehalt wurde demnach $x = \frac{24 \cdot 5 \cdot 1}{4 \cdot 50000} = 0{,}0006$ gefunden.

Wie die Berechnung ergibt, waren in diesen 24 ccm — 0,0006 vorhanden.

2. 5 ccm einer 1 ‰igen Tyrosinlösung wurden 4 mal verdünnt = 20 ccm. Von diesen 20 ccm wurden 8 ccm genommen und 3 mal verdünnt = 24 ccm. Diese 24 ccm, deren Tyrosingehalt zunächst unbekannt war, wurden untersucht. Die Ausgangsflüssigkeit (24 ccm) ergab eine Millonsche Reaktion, die weit stärker war als die Standardprobe. Sie entsprach der letzteren, ungefähr, wenn sie 4 mal mit Wasser verdünnt wurde. Es wurde daher die Ausgangsflüssigkeit 4 mal verdünnt und in der vorgeschriebenen Weise nach 5 Minuten mit der Standardprobe verglichen. Dabei ergab sich, daß die 4 malige Verdünnung noch eine Spur stärker reagierte als die Standardlösung. Colorimetrisch verhielten sich die Farben wie 20 : 18, d. h. es gab die 4 malige Verdünnung der untersuchten 24 ccm 20/18 stärkeren Millon als der Standardlösung entsprach[1]).

Demnach wurde Tyrosin $x = \frac{24 \cdot 4 \cdot 20 \cdot 1}{18 \cdot 50000} = 0{,}0021$ gefunden (colorimetrisch).

Die makroskopische Bestimmung ohne Colorimeter ergab Farbengleichheit, wenn zur stärkeren Probe = 5 ccm noch $\frac{1}{2}$ ccm H_2O hinzugefügt wurde, so daß das Verhältnis 5·5 : 5 betrug. Der Tyrosingehalt danach wäre $x = \frac{24 \cdot 4 \cdot 5 \cdot 5 \cdot 1}{5 \cdot 50000} = 0{,}0021$ (makrosk.). Die Berechnung ergibt in obigen 24 ccm Tyrosin = 0,0020 vorhanden.

Es wurden weiterhin einige Versuche bezüglich der Anwendbarkeit der Methode auf Eiweißkörper vorgenommen. Die Eiweißkörper können nur nach Hydrolyse untersucht werden. Die direkte Untersuchung alkalischer Eiweißlösungen ist nicht möglich wegen der Fällung durch das Hg-Sulfat. Die Bestimmung des Tyrosins im Hydrolysate der untersuchten Eiweißkörper ging jedoch glatt von statten und machten sich keinerlei Hemmungen von seiten anderer Körper bemerkbar.

0,1 g Casein Merck wurden mit 60 ccm 25 % H_2SO_4 eine Stunde am

---

[1]) Zum colorimetrischen Vergleich im Dubosq, für welchen 10 ccm notwendig sind, ist die Millonsche Probe mit entsprechend größeren Quantitäten anzustellen; statt mit 3 ccm mit 12 ccm und das Multiplum an Reagens, also 8 ccm Hg-Sulfat und 12 Tropfen Natriumnitrit, hinzuzufügen.

Rückflußkühler hydrolysiert. Vom Hydrolysat wurden 10 ccm mit reinem Na_2CO_3 in Substanz neutralisiert, filtriert, dann bis zur 3 maligen Verdünnung mit H_2O aufgefüllt. Die mit diesen 30 ccm angestellte Tyrosinprobe ist etwas stärker als die Standardprobe. Die Farbenintensität verhielt sich wie 5 : 4.

Tyrosin in obigen 0,1 g Casein $x = \frac{3 \cdot 10 \cdot 6 \cdot 5 \cdot 1}{4 \; 50000} = 0{,}0045$ gefunden.

Da Casein (Abderhalden, Lehrb. d. phys. Chemie S. 497) 4,5 % Tyrosin enthält, so sind in diesen 0,1 g Tyrosin = 0,0045 vorhanden. Beide Werte stimmen somit absolut überein.

Ferner wurden zwei mir von Herrn Prof. Fürth freundlichst überlassene Präparate von Eieralbumin und Elastin auf ihren Tyrosingehalt untersucht.

0,2 g Eieralbumin wurden in 20 H_2O + 5 ccm 10 % Na_2CO_3 gelöst und auf 100 ccm aufgefüllt. Es lag daher eine 0,2 %ige Lösung vor. Der Versuch, in dieser Lösung das Tyrosin direkt zu bestimmen, war aus den früher angegebenen Gründen nicht möglich. Es wurden deshalb 75 ccm der obigen Flüssigkeit mit 25 ccm konz. H_2SO_4 versetzt und 1 Stunde hydrolysiert. Die 100 ccm enthielten 0,15 g Eieralbumin. Nach der Hydrolyse wurden 10 ccm mit Na_2CO_3 in Substanz neutralisiert, filtriert und auf 20 ccm das Filtrat aufgefüllt. Mit diesen 20 ccm wurde die quantitative Tyrosinprobe angestellt. Die Standardreaktion war etwas stärker. Ich mußte dieselbe auf 9 ccm verdünnen, um Farbengleichheit zu erzielen.

Der Tyrosingehalt $x = \frac{100 \cdot 2 \cdot 5 \cdot 1}{9 \; 50000} = 0{,}0022$ gefunden.

Nach Abderhalden und Pregl (Zeitschr. f. phys. Chem. **46**, 30) enthält Eieralbumin 1,1 % Tyrosin. Demnach müßten in den 0,15 g enthalten sein 0,00165 Tyrosin. Der durch die colorimetrische Bestimmung erhaltene Wert ist daher höher als der auf der Grundlage von 1,1 % berechnete, oder dieses Eieralbumin enthält nach meiner Methode 1,46 % Tyrosin gegenüber dem von Abderhalden und Pregl in ihrem Eieralbumin erhaltenen Wert von 1,1 %.

0,2 g Elastin wurden mit 50 ccm 20 % H_2SO_4 1 Stunde am Rückflußkühler hydrolysiert, nach der Hydrolyse auf 50 ccm wieder aufgefüllt, 10 ccm mit Na_2CO_3 neutralisiert, filtriert und auf 20 ccm aufgefüllt. Mit diesen 20 ccm wurde die Tyrosinprobe angestellt. Dieselbe ergab eine schwächere Intensität als die Standardprobe hatte, und zwar verhielten sich die Farben wie 5 : 6

Tyrosin $x = \frac{10 \cdot 2 \cdot 5 \cdot 5 \cdot 1}{6 \; 50000} = 0{,}00166$ gefunden.

Nach Abderhalden l. c. enthält Elastin 0,34 % Tyrosin. Danach müßten in diesen 0,2 g enthalten sein 0,00068 Tyrosin. Gefunden wurden aber 0,00166, somit mehr als doppelt soviel oder 0,83 % entsprechend.

Die Wiederholung der Tyrosinprobe mit diesem Elastin-Hydrolysat ergab denselben Wert. Es müßte Gegenstand besonderer Untersuchung sein, zu sehen, worin die Abweichung der gefundenen von dem berechneten Tyrosinwerte beim Eieralbumin und Elastin begründet ist.

Zusammenfassung:

1. Die Millonsche Probe läßt sich in der beschriebenen Modifikation zur quantitativen Tyrosinbestimmung verwenden.

2. Tyrosinlösungen gaben ebenso wie Casein Merck nach der Hydrolyse genaue Übereinstimmung zwischen dem gefundenen und berechneten Werte.

3. Die Tyrosinbestimmung läßt sich auf Hydrolysate der Eiweißkörper glatt anwenden.

Eine Mikrobestimmung des Calciums in Blut, Serum[1]) und anderen organischen Substanzen[2]).

Von

D. J. de Waard.

(Aus dem Physiologischen Institut der Universität Groningen.)

(Eingegangen am 14. Juli 1919.)

Mit 1 Figur im Text.

Zu vielen Zwecken braucht man eine Methode zur Bestimmung des Calciums in kleinen Mengen organischer Substanzen. Dazu habe ich eine Methode ausgearbeitet, die gestattet, das Ca bis zu einer Genauigkeit von 0,002 mg bestimmen zu können.

Für Blut- und Serumkalkbestimmungen, wozu diese Methode hauptsächlich dienen wird, sind außer des gewöhnlich geübten Verfahrens zur Ca-Bestimmung in größeren Mengen verschiedene Methoden beschrieben worden.

Erstens die Methode von Blair Bell[3]). Sie wird von Lamers[4]) eingehend beschrieben und kritisiert. Bei der Anwendung kam er aber zu keinem Resultat. Blair Bell präcipitiert mittels Oxalsäure das Ca des Blutes und zählt die gebildeten Krystalle von Ca-Oxalat im Blutkörperchenzählapparat.

---

[1]) Wenn man mit Serum allein arbeitet, kann man die Methode beträchtlich abkürzen, wie aus folgendem Aufsatz hervorgeht.

[2]) Die Methode wurde bereits am 20. Dezember 1917 auf dem Niederländischen Physiologentag in Amsterdam mitgeteilt (vgl. kurzes Referat im Nederlandsch Tijdschr. voor Geneeskunde 62, 2. Helft, 992) und seitdem in Holländischen Kinderhospitälern und auch im hiesigen physiologischen Institut von anderen mit Erfolg vielfach benutzt.

[3]) Blair Bell, The British Medical Journ., April **1907**.

[4]) Lamers, Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynäk. **71**, 392.

Weiter existieren einige Methoden zur Blutkalkbestimmung, die darauf beruhen, daß freie Ca-Ionen in der Lösung für das Gerinnen des Blutes nötig sind.

Diese Methoden sind aber zu vielen Zwecken nicht brauchbar, weil sie nur angewandt werden können für noch nicht geronnenes Blut, aber nicht für das Serum usw.

Übrigens geben sie auch nur Vergleichsresultate und keine absoluten Werte. Die betreffende gebräuchlichste Methode rührt von Wright[1]). Wright saugt in Glascapillaren Mischungen auf, die bestehen aus einem Teil Blut und einem Teil mit NaCl isotonisch gemachter Ammoniumoxalatlösung von verschiedener Konzentration. Aus derjenigen Konzentration, die gerade die Gerinnung noch aufheben kann, berechnet er das Quantum Ca. In dieser Weise kann man nur sehr grobe Bestimmungen machen; denn gewöhnlich wird gearbeitet mit Ammoniumoxalatlösungen von 1 : 600, 1 : 900, 1 : 1200, 1 : 1500 und 1 : 1800. Man kann also nur große Schwankungen im Blutkalkgehalt nachweisen.

Voorhoeve[2]) mischt in einer Injektionsspritze Blut aus einer Vene mit einem solchen Quantum Ammoniumoxalatlösung, daß keine Gerinnung auftritt und fügt dann verschiedene Quanten $CaCl_2$-Lösung hinzu. Er beobachtet, bei welchem Quantum $CaCl_2$ Gerinnung eintritt. Obgleich diese Methode wohl exakter ist als die Wrightsche, gibt sie dennoch keine absoluten Werte.

Nur bei der Anwendung der chemischen Analyse kann man das ganze Quantum Ca bestimmen.

Schon Krüger[3]) hat kleine Mengen Ca titrimetrisch bestimmt, aber nur in Lösungen, die bloß Ca-Salz enthielten. Er fällt Ca mittels Ammoniumoxalat, wäscht den Niederschlag auf dem Filter, löst denselben in Schwefelsäure auf und titriert die frei gewordene Oxalsäure mit $^{n}/_{50}$-Kaliumpermanganat.

Krüger hat die Methode nicht ausgearbeitet für Aschen, die Magnesium, Phosphorsäure und Eisen enthalten.

Lamers verwendet diese Methode zur Bestimmung des Calciums von ungefähr 20 ccm Plasma aus Blut, das durch Hirudin flüssig gehalten wird.

Seine Asche enthält kein Eisen, denn er zentrifugiert die Blutkörperchen ab, indem er von der falschen Annahme ausgeht, daß diese kein Ca enthalten.

Hamburger[4]) hat nachgewiesen, daß Blutkörperchen wechselnde Quanten Ca enthalten, je nach der Zusammensetzung des umgebenden Serums. Hamburger bestimmte Ca durch Wägung als $CaSO_4$, was

---

[1]) A. E. Wright, Technik von Gummisaugkappe und Glascapillare. German Translation.

[2]) Voorhoeve, diese Zeitschr. **30**, 195, 1911.

[3]) Krüger, Zeitschr. f. physikal. Chem. **16**, 445, 1892.

[4]) Hamburger, Zeitschr. f. physikal. Chem. **69**, 663, 1909.

vorteilhafter ist als daß man es als CaO wägt, weil das schwerere Molekül ebenso viel Ca enthält.

Auch bestimmte Hamburger Ca dadurch, daß er es als Oxalat fällte und das Volum des Ca-Oxalates mittels Hämatokrite bestimmte. Hierzu gebraucht man aber größere Quanten Ca als in einigen Gramm Blut aufzufinden sind.

Françis Mc. Crudden[1]) gibt auch eine gravimetrische Ca-Bestimmung an. Dabei wird Sorge getragen für eine bestimmte Wasserstoffionenkonzentration während des Niederschlagens, und es wird Natriumacetat hinzugefügt. Das Eisen, wovon sich nur wenig in der Lösung befindet, bleibt unter diesen Bedingungen aufgelöst.

John A. Halverson und Olaf Bergeim[2]) bestimmen Ca in ± 10 ccm Blut oder Serum, nachdem die Proteine durch Pikrinsäure gefällt worden sind. Sie fällen das Ca nach Mc. Cruddens Methode als Oxalat, waschen durch Zentrifugieren und titrieren mit 0,01 n-Kaliumpermanganat.

Diese Methode ist aber sehr kurz beschrieben worden, so daß man nicht die Einzelheiten genau beschrieben findet. Es scheint mir schwierig, alles Ca quantitativ aus dem voluminösen Niederschlag von Eiweiß auszuwaschen.

Howland, Häßler und Mc. Marriott[3]) haben eine Methode beschrieben zur colorimetrischen Bestimmung von Ca-Oxalat dadurch, daß Oxalate die rote Farbe von Eisenthiocyanat beseitigen können. Welche Vorteile diese colorimetrische Bestimmung über die Titration hat, ist nicht beschrieben worden, auch nicht die Genauigkeit.

Jansen[4]) bestimmt Ca, nachdem er die Asche von 10 ccm Blut zuerst befreit hat von Eisen und Phosphorsäure, was seiner Meinung nach bestimmt notwendig ist.

Er fällt das Ca als Oxalat und glüht es, bis es zu CaO geworden ist; dann fügt er eine bestimmte Menge Säure hinzu und bestimmt acidimetrisch oder jodometrisch die nicht verbrauchte Säure.

Diese Methode ist ziemlich kompliziert durch die Entfernung von Eisen und Phosphorsäure und durch das Glühen des Oxalates.

Er gibt einige Nachteile an bei der Anwendung von 0,01 n-$KMnO_4$. Erstens soll man nicht gut sehen können, wenn Farbenumschlag auftritt und zweitens verdirbt die 0,01 n-Lösung schnell. Bei einiger Übung gelingt es aber leicht, den Farbenumschlag zu sehen, und die 0,01 n-Lösung kann man immer herstellen aus einer 0,1 Normallösung, die ziemlich lange haltbar ist.

Die Entfernung des Eisens und der Phosphorsäure gibt eine un-

---

[1]) Francis Mc. Crudden, Journ. of Biolog. Chem. 7, 83, 1909 bis 1910.

[2]) John A. Halverson und Olaf Bergeim, Proc. Americ. Soc. Biolog. Chem. in Journ. of Biol. Chem. 24, 22, 1916.

[3]) Howland, Häßler und Mc. Marriott, ebenda, S. 18.

[4]) Jansen, Zeitschr. f. physiol. Chem. **101**, 176, 1918.

angenehme Komplikation in der Methode Jansens, während auch das Glühen von Ca-Oxalat zu CaO langweiliger ist als das Auswaschen des Ca-Oxalates zum Titrieren mit $KMnO_4$.

Man braucht nicht das Eisen aus der Lösung zu entfernen, selbst nicht, wenn es sich um größere Mengen handelt, wenn man in der unten angegebenen Weise verfährt.

Wie man unten ersehen wird, präcipitiere ich Ca-Oxalat aus einer Lösung, die Eisen und Phosphorsäure enthält und nur mit ein wenig Essigsäure sauer gemacht worden ist.

Obwohl phosphorsaures Eisen nicht löslich ist in wenig Essigsäure, fällt es dennoch nicht aus, denn wenn die Lösung genügend Ammoniumoxalat enthält, bleibt das Eisenphosphat gelöst. Das Calcium fällt quantitativ aus.

Die von mir angewandte Methode gleicht für willkürliche organische Substanzen im Prinzip der von Lamers beschriebenen (d. h. Veraschen, Auflösen der Asche in HCl, Präcipitieren mit Ammoniumoxalat des Ca-Oxalates, Auswaschen dieses Präcipitates, Auflösung in Säure und Titrieren der Oxalsäure mittels 0,01 n-Kaliumpermanganatlösung).

Jedoch gestattet die von uns vorgeschlagene technische Ausführung eine größere Genauigkeit; oder die gleiche Genauigkeit, wenn man kleinere Mengen zur Verfügung hat.

Ich werde jetzt beschreiben, wie man verfahren soll zur Ca-Bestimmung im Blute. 0,5 ccm genügt hierzu; jedoch ist, wenn man ausreichend Material bekommen kann, das geeignetste Quantum 1,5 ccm. Das Blut wird in einem Platintiegel aufgefangen und gewogen.

Veraschung[1]).

Man stellt den Tiegel auf ein Drahtnetz und dampft ein auf einer kleinen Flamme. Sobald die Masse trocken ist, kann man mit größerer Flamme einäschern. Wenn man diese Operation im Abzuge ausführen kann, ist es empfehlenswert, vor dem Eindampfen etwas starke Salzsäure hinzuzufügen, wodurch die Masse sich leichter trocknen läßt, weil sie dann bis zum Ende breiartig bleibt und nicht zu festen Klumpen

---

[1]) Wie aus dem nächsten Artikel hervorgeht, kann man, wenn es sich um Serum handelt, die Veraschung vermeiden, indem das Ca direkt ausgefällt wird.

gerinnt. Beim Einäschern wird man beobachten, daß etwas Kohle sehr resistent ist und sich nicht verbrennen läßt. Deshalb löst man die Salze aus der Asche auf mittels ein wenig verdünnter Salzsäure, die sich gelb färbt durch die Eisensalze.

Die Lösung hebt man von der Kohle ab mittels einer zum Capillar ausgezogenen Glasröhre, die mit einer Gummikappe versehen ist. Jetzt läßt sich die Kohle leichter verbrennen. Man löst die Asche wieder in verdünnter Salzsäure auf und mit derselben Capillarpipette hebt man die Lösung wieder aus dem Tiegel. Dieser wird jetzt noch einige Male mit einigen Tropfen Salzsäure nachgespült.

Die Lösung der Asche, die man in dieser Weise bekommt, beträgt nicht mehr als 0,5 bis 1 ccm, wenn man jedesmal nicht mehr als einige Tropfen Säure hinzufügt. Man spritzt die Lösung aus der Pipette in ein Zentrifugierröhrchen und sorgt dafür, daß man mit den letzten Tropfen Säure den ganzen benetzten Teil der Capillarröhre nachspült. Der Zweck ist jetzt, das Ca aus der Lösung als Oxalat zu fällen und nachdem der Niederschlag ausgewaschen ist, in Säure aufzulösen zur Titration mit Kaliumpermanganat.

Auswaschung des Niederschlages.

Eine Schwierigkeit macht der Umstand, daß Ca-Oxalat nicht völlig unlöslich ist in Wasser. Wenn man größere Mengen Wasser anwendete, so würde von den geringen Oxalatmengen nichts übrig bleiben. Um mit wenig Wasser doch gut auswaschen zu können, haben die Zentrifugierröhrchen eine besondere Form. (Siehe Fig. 1.)

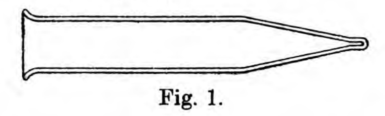


Fig. 1.

Sie sind $\pm$ 11 cm lang und 1,5 cm weit. Das untere Ende soll sehr sorgfältig ausgezogen werden, ohne Aus- oder Einbuchtungen. An der Spitze ist ein kleiner zylindrischer Raum $\pm$ 2 bis 3 mm lang und 1 bis 2 mm weit. Diese Form gestattet ein sehr gutes Auswaschen mit wenig Wasser. Wenn sich in der Röhre wenig Niederschlag befindet, so kann man diesen ganz in den unteren Zylinder hineinzentrifugieren, die oben-

stehende Flüssigkeit zuerst mit einer größeren und die letzten Mengen mit einer Capillarpipette entfernen.

Dann spritzt man mit einer Capillarpipette etwas Wasser der Wand des Röhrchens entlang und wirbelt zuletzt den Niederschlag auf, indem man etwas Wasser kräftig darauf spritzt. Wenn man jetzt wieder zentrifugiert, ist der Niederschlag schon ziemlich gut ausgewaschen. Für Calciumoxalat, das in der hier unten beschriebenen Weise entstanden ist, genügt es, daß man es zweimal mit 2 ccm Wasser auswäscht.

Fällung des Calciums.

Die salzsaure Lösung der Asche enthält außer Ca auch Stoffe, die Vorsicht erfordern bei der Fällung von Ca als Oxalat. Diese Stoffe sind P_2O_5, Mg und Fe.

Calciumphosphat ist löslich in Essigsäure, Calciumoxalat nicht; Magnesiumoxalat ist löslich bei Anwesenheit einer genügenden Menge Ammoniumsalz in saurer Lösung; Eisenoxalat ist löslich, und Eisenphosphat ist löslich, wenn genügend Ammoniumoxalat und ein wenig Essigsäure anwesend ist.

Man arbeitet also folgendermaßen: Das Röhrchen wird in ein kochendes Wasserbad gestellt, man fügt 0,5 ccm gesättigter Ammoniumoxalatlösung hinzu, dann so viel starkes Ammoniak, daß die Lösung, wenn man geschüttelt hat, danach riecht und schließlich so viel Eisessig, daß man diesen auch riecht, wenn man es geschüttelt hat.

Der jetzt entstandene Niederschlag besteht ausschließlich aus Calciumoxalat. Wenn man nach einigen Minuten das Röhrchen abkühlt, ist alles Ca niedergeschlagen.

Man braucht nicht einige Stunden zu warten, wie dies gewöhnlich bei Ca-Bestimmungen geschieht, sondern man kann sogleich den Niederschlag abzentrifugieren. Ich verwende immer eine Runnesche Zentrifuge mit 2800 Touren pro Minute und zentrifugiere $\pm$ 3 Minuten, aber in jeder anderen Zentrifuge kann man es natürlich auch; man soll sich jedoch die zur vollständigen Abscheidung des Ca-Oxalates nötige Zeit selbst ausprobieren.

Der so erhaltene Niederschlag wird in der oben angegebenen Weise zweimal mit destilliertem Wasser ausgewaschen.

Titrieren.

Dann kann man zur Titration schreiten, nachdem das Ca-Oxalat in $\pm 0,3$ ccm verdünnter Salpetersäure (1 : 1) (nitritfrei) aufgelöst und im Wasserbade bis zu $\pm 50^0$ erwärmt worden ist. Nitritfreie Salpetersäure ist dazu die geeignete Säure; denn Salzsäure gibt oft zu hohe Werte, indem sie selbst zu Cl oxydiert wird. Kann man keine nitritfreie Salpetersäure bekommen, so wendet man 0,3 ccm Schwefelsäure (1 : 2) an. Dann präcipitiert man zuerst Gips, der sich aber während des Titrierens wieder in der größeren Flüssigkeitsmenge auflöst und keinen Einfluß auf den Endpunkt der Titration hat.

Zum Titrieren benutzt man eine Bürette, mit der man Tropfen bis zu 0,01 ccm hinzufügen und ablesen oder genau schätzen kann. Damit die kleinen Tropfen abfließen können zieht man die Spitze scharf aus.

Man titriert mit 0,01 n-Kaliumpermanganatlösung. Es ist am besten eine Lösung zu nehmen von etwas mehr als 0,1 n in ausgekochtem destilliertem Wasser, die man nach einigen Tagen, wenn etwa organische Substanzen oxydiert worden sind, so genau wie möglich zu 0,1 n anfüllt. Man kontrolliert in einer in den Lehrbüchern für analytische Chemie angegebenen Weise die Normalität. Ich verwende immer ein genau abgewogenes Quantum Natriumoxalat von Sörensen, in Wasser gelöst. 0,1 n-$KMnO_4$ ist viel haltbarer als eine 0,01 Normallösung, die sich in wenigen Tagen zersetzt. Alle 2 oder 3 Tage verdünnt man ein gewisses Quantum 0,1 n-Lösung mit ausgekochtem destilliertem Wasser zu einer 0,01 n-Lösung, die man auch noch gegen 0,01 n-Natriumoxalatlösung kontrollieren kann.

Man titriert die warme Lösung von Ca-Oxalat in Salpeter- oder Schwefelsäure, bis die Mischung eine eben wahrnehmbare Rosafarbe bekommt und diese mindestens 2 Minuten behält.

Das erste Quantum der hinzugefügten Permanganatlösung entfärbt sich nur langsam, später geht das schneller. Bisweilen und besonders am Ende der Titration soll man die Lösung mit einer Capillarpipette gründlich mischen, damit auch die in der Spitze des Röhrchens erhaltene Flüssigkeit in Reaktion

tritt. Selbstverständlich soll man, wenn die Titration beendet scheint, nochmals Flüssigkeit in die Pipette einsaugen, damit die darin zurückgebliebene Oxalsäure daraus gespült wird und mittitriert.

Von der gebrauchten Menge 0,01 n-Lösung zieht man dann so viel ab als nötig ist, um nach der tatsächlichen Titration einem solchen Quantum Flüssigkeit, wie sich jetzt im Röhrchen befindet, die eben sichtbare Farbe zu geben. Diesen Faktor bestimmt man, indem man 0,3 ccm verdünnte Salzsäure oder Schwefelsäure mit einem Quantum Wasser mischt, ungefähr ebenso groß wie die verbrauchte 0,01 n-Lösung und titriert dann, bis man die eben wahrnehmbare Rosafarbe bekommt. Dieser Faktor ist abhängig von der Weite des Röhrchens, der verwendeten Säure usw. Wenn man jedoch unter denselben Bedingungen arbeitet, kann man ihn für gut feststellen für bestimmte Mengen 0,01 n-Lösung. Ich ziehe 0,02 ccm ab für 0,1 bis 1 ccm, 0,03 für 1 bis 2 ccm.

Nachdem man den Faktor abgezogen hat, entspricht jeder Kubikzentimeter 0,01 n-Lösung 0,2 mg Ca.

Wenn man bis zu 0,01 ccm genau arbeitet, bedeutet das also eine Genauigkeit von 0,002 mg Ca.

Diese Genauigkeit erreicht man nur, wenn man einige Kontrollbestimmungen macht; jede einzelne Bestimmung kann einige Hundertstel Kubikzentimeter Abweichung geben.

Zum Schluß einige Beispiele:

Eine Lösung von 5 g NaCl, 0,6 g K_2SO_4, 0,1 g $FeCl_3$, 0,2 g $MgCl_2 \cdot 6$ aq., 0,6 g Na_2HPO_4, 2 ccm HCl und 50 ccm 1 $^0/_0$ $CaCl_2 \cdot 6$ aq. Lösung wird zu 250 ccm angefüllt mit destilliertem Wasser. Alle Chemikalien waren rein. Diese Lösung enthält alle Salze, die praktisch in Betracht bei organischen Aschenanalysen kommen. Die Lösung von $CaCl_2 \cdot 6$ aq. ist mit Silbernitrat auf Cl titriert und enthält auch wirklich genau soviel Cl wie sich berechnen läßt.

In vier Zentrifugierröhrchen wird je 1 ccm gebracht, in vier andere je 2 ccm. Darin wird in oben angegebener Weise Ca bestimmt. Die Resultate sind für 1 ccm resp. 1,87, 1,86, 1,83, 1,84 ccm verbrauchte 0,01 n-$KMnO_4$, d. i. im Durchschnitt 1,85 ccm. Man zieht ab (zur Farbenerzielung) 0,03 ccm.

Es war also in Lösung gefunden: 1,82 $\times$ 0,2 mg Ca

$= 0{,}364$ mg Ca. In 1 ccm waren 2 mg $CaCl_2 \cdot 6$ aq $= 2 \times \frac{40}{219}$ $= 0{,}365$ mg Ca. Der Ablesungsfehler ist 0,002 mg Ca, also ist die Differenz zwischen gefundenen und anwesendem Ca kleiner als dieser.

Für die Röhrchen mit 2 ccm fand ich resp. 3,69, 3,64, 3,70, 3,68 ccm 0,01 n-$KMnO_4$-Lösung. Also im Durchschnitt 3,68 ccm. Der Farbenerzielungsfaktor ist 0,04 ccm. Die Lösung enthält also $3{,}64 \times 0{,}2$ mg Ca; das ist genau zweimal so viel wie in 1 ccm gefunden war.

In derselben künstlichen Asche von soeben befindet sich 0,1 % $CaCl_2$.

Anzahl Kubikzentimeter 0,01 n-$KMnO_4$ für 1 ccm Lösung: 1,86, 1,89, 1,90, 1,89, 1,89, 1,86, 1,83, 1,86, 1,84, 1,85. Mittelwert 1,867 ccm $KMnO_4$.

Nach Abzug des Umschlagsfaktors, der für hier 0,05 ccm betrug, bleibt also für die zur Oxydierung nötige $KMnO_4$-Menge $1{,}867 - 0{,}05 = 1{,}817$ ccm. Das $CaCl_2$-Quantum betrug also $1{,}817 \times 0{,}55$ $= 0{,}999$ mg, was von dem gebrauchten = 1 mg kaum abweicht.

Von derselben künstlichen Asche werden statt 1 ccm Lösung 2 ccm genommen.

Anzahl Kubikzentimeter 0,01 n-$KMnO_4$-Lösung: 3,69, 3,64, 3,70, 3,68, 3,70, 3,67, 3,68, 3,69, 3,70, 3,69. Mittelwert 3,684. Der Umschlagsfaktor ist 0,06 ccm. Also erfordern 2 ccm $CaCl_2$-Lösung $3{,}684 - 0{,}06$ $= 3{,}624$ ccm. Das würde für 1 ccm 1,812 ccm betragen. Dieses Quantum entspricht $1{,}812 \times 0{,}55$ mg $CaCl_2 = 0{,}997$ mg $CaCl_2$.

Ca-Bestimmung in 2 ccm Rinderserum.

Nach Veraschung und Fällung des Calciums werden verbraucht: 0,86, 0,86, 0,85, 0,87 ccm 0,01 n-$KMnO_4$-Lösung. Der Umschlagsfaktor beträgt 0,02 ccm.

Also war in 2 ccm Serum, das Ca als $CaCl_2$ berechnet, vorhanden: $(0{,}86 - 0{,}02) \times 0{,}55 = 0{,}46$ mg $CaCl_2$, in 1 ccm also 0,23 mg $CaCl_2$.

Anderes Rinderserum.

Nach Veraschung und Fällung des Calciums werden verbraucht: 0,87, 0,89, 0,88, 0,89 ccm 0,01 n-$KMnO_4$-Lösung. Mittelwert 0,8825 ccm. Umschlagsfaktor 0,02.

Also war in 2 ccm Serum, das Ca als $CaCl_2$ berechnet, vorhanden $(0{,}8825 - 0{,}02) \times 0{,}55 = 0{,}474$ mg $CaCl_2$, in 1 ccm also 0,237 mg $CaCl_2$.

Weiter noch einige Ca-Bestimmungen im Gesamtblut einer Patientin mit Tetania gravidarum. Das Blut war defibriniert.

2,073 g Blut gibt nach Veraschung einen Verbrauch von 0,57 — 0,02

= 0,55 ccm 0,01 n-$KMnO_4$-Lösung, das ist 0,053 mg Calcium pro Gramm Blut.

3,043 g Blut verbraucht 0,82 — 0,02 = 0,80 ccm 0,01 n-$KMnO_4$-Lösung, das ist 0,052 mg Calcium pro Gramm Blut.

1,993 g Serum von diesem Blute wurde verascht und der Ca-Oxalat verbrauchte 1,02 — 0,03 ccm $KMnO_4$-Lösung, das ist 0,099 mg Ca pro Gramm Serum.

2,033 g Serum verbrauchte 1,04 — 0,03 ccm $KMnO_4$ = 0,099 mg Calcium pro Gramm Serum.

Zusammenfassung.

Es wurde eine Methode angegeben, um das Calcium in der Asche organischer Substanzen zu ermitteln, ohne daß man Eisen, Magnesium oder Phosphate zu entfernen braucht.

Die Methode besteht darin, daß das Calcium durch Ammoniumoxalat als Oxalat gefällt und in dieser Form mittels Zentrifuge ausgewaschen wird. Nach Auflösung in verdünnter Säure wird mit 0,01 n-$KMnO_4$ titriert.

Man kann in dieser Weise das Calcium in 0,5 ccm Serum mit einer Genauigkeit von 4 % bestimmen; oder anders gesagt, 0,10 mg Calcium zu einer Fehlergrenze von 0,004 mg.

Erlaubt es das verfügbare Material, mehrere Bestimmungen auszuführen, so erreicht man eine Genauigkeit von 1 %.

Mikrocalciumbestimmung direkt im Serum.

Von

D. J. de Waard.

(Aus dem Physiologischen Institut der Reichsuniversität Groningen.)

(Eingegangen am 14. Juli 1919.)

In der vorigen Arbeit[1]) habe ich eine einfache und genaue Methode beschrieben, um in geringen Flüssigkeitsmengen den Calciumgehalt zu ermitteln. Handelt es sich aber um organische Flüssigkeiten wie Serum, so wurden dieselben erst verascht. Es hat sich nun herausgestellt, daß diese Vorbereitung nicht nötig ist, weil alles sich im Serum befindende Ca in direkter Weise durch gesättigte Ammoniumoxalatlösung ausgefällt wird.

Verschiedene Autoren behaupten, daß man nur das anorganische, ionisierte Ca aus Serum mittels Ammoniumoxalat fällen kann, aber meine Versuche haben anders ausgewiesen. So schreibt Jansen[2]) in einer Kritik über Voorhoeves Methode zur Ca-Bestimmung im Blut: „...... kann nur der ionisierte Anteil des Blutkalkes im günstigsten Falle bestimmt werden, während der gebundene Kalk unberücksichtigt bleibt, der nach Untersuchungen von Rona und Takahashi[3]) 25 bis 30% des Gesamtkalkes im Blut betragen kann."

Jansen urteilt wahrscheinlich nur so aus theoretischen Gründen, denn die Versuche im Serum geben andere Resultate.

Rona und Takahashi finden mittels Kompensations-

---

[1]) de Waard, diese Zeitschr. **97**, 176, 1919.

[2]) Jansen, Zeitschr. f. Physiol. Chem. **101**, 176, 1918.

[3]) Rona und Takahashi, diese Zeitschr. **31**, 336, 1911.

dialyse im Serum ein Quantum gebundenes Ca. Es wäre möglich, auch das gebundene Calcium als Oxalat zu fällen, wenn man annimmt, daß nur ein Teil des Calciums im Blutserum frei ionisiert ist, aber wenn man diesen Teil fällte, würde auch das übrige Ca frei werden und vom Oxalate gefällt werden.

Das Serum, mit dem ich meine Versuche angestellt habe, war hauptsächlich Spontanserum aus Rinder- und Pferdeblut. Bekanntlich trübt sich Serum, wenn es sich selbst einige Zeit überlassen wird, sogar im Eisschrank. In diesem Falle zentrifugierte ich es gut und konnte dann die festen Bestandteile entfernen.

Man verfährt nun folgenderweise: Man füllt ein Zentrifugierröhrchen, das im vorigen Artikel beschrieben worden ist, mit einem bestimmten Quantum Serum (wenn man wenig Material hat, genügen 0,5 ccm), und fügt 0,5 ccm gesättigter Ammoniumoxalatlösung zu jedem ccm Serum hinzu. Nach mindestens 15 Minuten wird zentrifugiert und der Niederschlag 3 mal gewaschen und titriert wie im vorigen Artikel beschrieben wurde.

Von den vielen vergleichenden Ca-Bestimmungen, in der Serumasche und im entsprechenden normalen Serum, die ich in dieser Richtung angestellt habe, gebe ich hier einige Beispiele.

In 2 mal 2 ccm Serum wird durch Veraschen das Quantum Ca bestimmt. Man braucht 0,88 und 0,89 ccm 0,01 normale $KMnO_4$-Lösung. Der Faktor zur Farbenerzielung ist 0,02 ccm. Es war also pro ccm Serum $0{,}865 \times 0{,}2 \times \frac{1}{2} = 0{,}0865$ mg Ca in Lösung.

2 mal 2 ccm Serum wurde nicht verascht und mit je 1 ccm Ammoniumoxalat beschickt. Man braucht beim Titrieren 0,89 ccm und 0,90 ccm 0,01 N$KMnO_4$-Lösung. Das macht also 0,0875 mg Ca pro ccm.

Der Unterschied zwischen veraschtem und nicht veraschtem Serum ist 0,0875 — 0,0865 = 0,001 mg Ca pro ccm; ein Unterschied also, der unterhalb der Fehlergrenze liegt.

Ca-Bestimmung in 2 ccm Rinderserum.

a) Nach Veraschung:

Nötig sind 0,86, 0,86, 0,85, 0,87 ccm $KMnO_4$-Lösung; also im Mittel

0,86. Der Faktor ist 0,02 ccm. In der Serumasche befindet sich also $0,84 \times 0,55 \times 0,5 = 0,23$ mg $CaCl_2$ in 1 ccm Serum.

b) Im klaren Serum, auf direktem Wege:

Nötig sind 0,86, 0,85, 0,86, 0,86 ccm $KMnO_4$-Lösung; im Mittel also 0,86. Also auch hier 0,23 mg $CaCl_2$ in 1 ccm Serum.

Ca-Bestimmung in 2 ccm Serum eines anderen Rindes.

a) Nach Veraschung: 0,87, 0,89, 0,88, 0,89 ccm $KMnO_4$-Lösung; also im Mittel 0,8825.

b) Auf direktem Wege: 0,89, 0,90, 0,87, 0,89; im Mittel 0,8875. Also 0,24 mg $CaCl_2$ in 1 ccm Serum.

Man wird vielleicht einwenden, daß diese Versuche nicht beweisend sind, weil nur ein Teil des Calciums vielleicht mit einem Teil des Magnesiums aus dem Serum gefällt wird.

Deshalb habe ich jedesmal 10 ccm Serum verascht, nachdem in der erwähnten Weise das Calcium entfernt worden war, und habe in der Asche Calcium zu bestimmen versucht. Ich fand nur eine Spur, d. h. $\pm$ 0,004 mg Calcium in 10 ccm Serum. Das ist zu wenig, um in Betracht zu kommen, wenn man nur mit einigen Kubikzentimetern arbeitet.

Auch habe ich zu je 2 ccm Serum 0,5 ccm $MgCl_2 \cdot 6$ aq-Lösung von 1 % hinzugefügt, was gar keinen Einfluß hatte auf das darin gefundene Quantum Calcium.

Diese Kontrollversuche wurden mehrmals wiederholt. Im Niederschlag konnte ich nie Mg nachweisen.

Ich glaube also bewiesen zu haben, daß man mittels Ammoniumoxalates aus Serum als solchem, alles Calcium als reines Calciumoxalat fällen kann. Das Calciumoxalat ist unmittelbar zu der beschriebenen Mikrocalciumbestimmung geeignet.

Diureseversuche mit Kochsalzlösung bei verschiedenartiger Zuführung.

Von

Heinrich Zeller.

(Aus der Medizinischen Klinik Greifswald.)

(Eingegangen am 17. Juli 1919.)

Ginsberg fand bei Hunden, daß Leitungswasser per os diuretisch wirkt, während es subcutan und intravenös nicht wirkt.

Cow fand dasselbe; er stellte weiterhin fest, daß mit Magendarmextrakt versetztes, subcutan injiziertes Wasser ebenfalls diuretische Wirkung hat. Er glaubt, das auf eine fermentartige Substanz zurückführen zu müssen. Später hat er die Arbeit fortgesetzt. Er findet denselben Effekt, wenn er den Extrakt in geringen Mengen zu einer intravenösen Salzlösung zusetzt. Die supponierte, diuretisch wirkende Substanz ist bei Extraktion aus der Duodenalschleimhaut am wirksamsten. Er findet sie jetzt thermostabil, jedoch verliert sie nach einiger Zeit an Wirksamkeit. Da die Diurese nach Einführung des Extraktes nicht sofort auftritt, ist er der Meinung, daß dieser im Kreislauf erst eine Umwandlung durchzumachen hat. Zu gleicher Zeit hat Hashimoto eine Arbeit über die Diurese und das angebliche Ferment aus dem Verdauungstrakt veröffentlicht. Er findet Leitungswasser per os wirksam; subcutan oder intravenös gegeben, ist es unwirksam. Macht er aber die intravenöse Injektion langsam, evtl. unter Zusatz von etwas Kochsalz, oder spritzt er Leitungswasser in die Darmvenen, so erfolgt eine ebenso starke Diurese wie per os. Die Wirksamkeit von Extrakten der Eingeweide führt er auf den Salzgehalt zurück. Eine weitere Notiz bringen Magnus-Alsleben und Nonnenbruch. Sie finden einen Unterschied in der Wasserausscheidung bei geschädigter Niere; intravenös beigebrachte Kochsalzlösung wird ausgeschieden, während per os gereichter Tee retiniert wird.

Es war daher nötig, unter möglichst gleichen Bedingungen beim Menschen Versuche über die Ausscheidung von Wasser bei stomachaler, intravenöser und subcutaner Beibringung zu

untersuchen. Um Schädigungen jeder Art zu vermeiden, kam eigentlich nur physiologische Kochsalzlösung in Betracht. Bei Vorversuchen stellte sich heraus, daß bei der jetzigen wasser-, salz-, gemüse- und kartoffelreichen Ernährung öfters sprunghafte Wasserretentionen bzw. Ausscheidungen vorkamen; insbesondere Sonntags bei besserem Essen (Fleisch einmal in der Woche) kamen reichliche Urinmengen zum Vorschein, während Montags bei der Kartoffelgemüsesuppe sofort Wasser retiniert wurde. Die Versuche wurden nur an den dazwischenliegenden Tagen angestellt, ebenfalls nur mit Gesunden, die schon längere Zeit in der Klinik waren, da besonders Neugekommene vom Lande zuerst Wasser retinierten, bis sie sich auf die veränderten Ernährungsverhältnisse eingestellt hatten. Zwischen die fortlaufenden Versuche wurde mindestens ein Zwischentag geschoben, da sich herausstellte, daß vorhergehende stärkere Diurese andern Tages eingespart wurde und umgekehrt. Sämtliche Personen mußten an drei auseinander liegenden Tagen 1 bis 2stündlich Urin lassen; bei gleichbleibender Kost erhielten sie am 2. Versuchstage um 7^h früh 500 ccm phys. Kochsalzlösung intravenös bzw. subcutan, am 3. Versuchstage 500 ccm per os.

Leider ist es nicht möglich, die zahlreichen Tabellen und Kurven der Versuche zu veröffentlichen. Im Urin wurde anfangs nur die Menge des stündlich gelassenen Urins, dessen spezifisches Gewicht und Kochsalzgehalt bestimmt.

Bei den Versuchen mit intravenöser Injektion, die gewöhnlich nach 15 Minuten beendigt war, ergab sich: Die Diurese setzt in der ersten Stunde ein, erreicht ihren Höhepunkt in der zweiten und dritten Stunde und nimmt dann langsam ab. Wird damit die Ausscheidung bei peroraler Zufuhr verglichen, so tritt die Diurese nicht in allen Fällen sofort ein. Manchmal erst nach 4 bis 5 Stunden. Tritt sie aber sofort ein, so erreicht sie in der ersten Stunde meist nicht die Höhe wie bei intravenöser Injektion, überschießt sie aber in den nächsten beiden Stunden, um gewöhnlich dann schnell abzuklingen. Die Menge der Mehrzufuhr wird nach intravenöser Darreichung durch die Mehrausfuhr übertroffen. Die Diurese vom Magen aus kann gegen die Mehrzufuhr zurückbleiben. Das Plus an Kochsalz erscheint im Urin nicht immer voll-

ständig, insbesondere bei Zufuhr per os. Gewöhnlich wird der Rest erst am nächsten Tage ausgeschieden.

Bei der subcutanen Injektion wurde wie vorhin verfahren. Die Infusion war gewöhnlich nach 15 bis 20 Minuten beendet. Das Infiltrat war nach 2 Stunden verschwunden. Die Diurese setzte häufig nach 3 bis 4 Stunden ein, jedoch blieb sie auch aus. Die vergleichende Diurese per os setzte bei den Patienten, die hierzu verwandt wurden, nicht so prompt ein, einmal blieb sie ganz aus.

Es kam bei weiteren Untersuchungen noch mehr zum Vorschein, daß bedeutende Abweichungen stattfinden können. Manchmal wirkt die vermehrte Wasserzufuhr, die verhältnismäßig gering ist, erst am anderen Tage, oder es erfolgt die Diurese nach vorausgegangener Ausscheidung konzentrierteren Urins. Es wurden daher einige Versuche angestellt, in denen das Wasser der Nahrung durch Kochsalzlösung ersetzt wurde. Die Untersuchten erhielten dann neben einer Trockenkost das Salzwasser intravenös, subcutan oder peroral. Die Trockenkost bestand aus Gemüsepüree zu Mittag, morgens und vormittags gab es belegte Semmel. Vom Salzwasser gab es vormittags um 7^h 400 ccm, mittags um 12^h 500 ccm. Bei einem Fall mit intravenöser Einspritzung erfolgte bei Einführung per os ziemlich bald eine Diurese. Bei parenteraler kam die eigentliche Diurese erst nach der zweiten Einspritzung zustande. Ein zweiter Fall mit subcutaner Injektion verhielt sich anders. Perorale Einführung ist ohne Erfolg; dagegen trat nach subcutaner Infusion deutlich Diurese auf.

Um weiteren Aufschluß über die nicht ganz regelmäßig einsetzende Diurese zu gewinnen, hoffte ich durch gleichzeitig mit eingeführtes Jod einen Anhaltspunkt zu gewinnen. Die Diurese hat jedoch keinen Einfluß auf die Ausscheidung des Jods. Ein Körper, der bei Ausschluß von Fleisch täglich in gleicher Menge ausgeschieden wird, ist das Kreatinin. Neubauer hat daher schon früher vorgeschlagen, dasselbe zur Nierenfunktionsprüfung zu benützen, da es bei demselben Individuum in Perioden von 6 Stunden gleichmäßig ausgeschieden wird. Versuche, die stündliche Ausscheidung bei gewöhnlicher und vermehrter Urinausscheidung zu bestimmen, zeigten, daß ziemliche Schwankungen vorhanden sind. Im großen Ganzen

wird das Kreatinin prozentisch parallel mit dem Kochsalz ausgeschieden, jedoch kommen einige kleine Abweichungen vor. Kreatinin wie Kochsalz werden in Menge um Mittag vermindert ausgeschieden.

Erst der Vergleich des Blutes und des Urins führte zum Ziele. In den ersten Versuchen wurde das spezifische Gewicht des Blutes stündlich bestimmt mit der Schmaltzschen Capillarmethode. Es fanden sich nur geringe Unterschiede, die häufig allein durch den Wägefehler bedingt sein konnten. Erst als anstatt von 100 mg Blut 400 mg verwandt wurden, waren sehr deutliche Unterschiede nachzuweisen. Ein Wägefehler von 0,1 mg bei 100 mg Blut gibt Wertunterschiede des spezifischen Gewichts um eine Stelle, also anstatt 1060 1059 oder 1061; das bedeutet aber eine Schwankung im Wassergehalt des Blutes um $1^1/_2\,^0/_0$, also bei einem Wassergehalt von $80\,^0/_0$ würde die Wägung $78^1/_2$ bis $81^1/_2\,^0/_0$ ergeben. Nimmt man dagegen 400 mg Blut, so wird der Fehler 4 mal kleiner. Um aber eventuelle Schwankungen durch die wechselnde Zahl der Erythrocyten auszuschließen, wurde gleichzeitig auch das spezifische Gewicht des Serums bestimmt. Nachfolgende Zahlen geben einen Überblick über die gefundenen Werte, die mit Capillaren bestimmt wurden, die 400 mg faßten. Zur Inhaltsbestimmung wurde Wasser von 37^0 benützt.

Zeit	Urinmenge ccm	Spez. Gewicht des Blutes	und Blutserums
7^h	—	1060,4	1028,5
8^h	35	1059,7	1028,0
9^h	42	1058,8	1027,4
10^h	135	1059,8	1028,2
11^h	100	1060,1	1028,6
	intravenös		
7^h	500	1061,2	1030,0
8^h	150	1057,9	1028,6
9^h	220	1060,5	1029,1
10^h	80	1061,2	1029,9
11^h	45	1061,1	1030,2
	subcutan		
7^h	500	1058,7	1028,6
8^h	22	1058,8	1028,5
9^h	57	1058,0	1028,3
10^h	60	1057,3	1027,6
11^h	110	1057,9	1028,1

Zeit	Urinmenge ccm per os	Spez. Gewicht des Blutes und Blutserums	
7h	500	1060,3	1029,2
8h	125	1058,6	1027,4
9h	220	1060,1	1028,7
10h	90	1060,1	1029,0
11h	35	1060,0	1029,3

Die Versuchsresultate der vorstehenden Tabelle stammen von vier verschiedenen Personen; alle erhielten dieselbe Kost, dazu erhielt die zweite Person 500 ccm Kochsalz intravenös; die dritte subcutan und die vierte per os. Es ergibt sich, daß eine vermehrte Wasserausscheidung immer einsetzt, wenn der Wassergehalt des Blutes zugenommen hat. Sie kann bestehen bleiben, wenn auch das spezifische Gewicht des Blutes den alten Wert erreicht hat. Bei allen Fällen, in denen bei Zufuhr per os oder subcutan keine nennenswerte Diurese auftrat, war das spezifische Gewicht des Blutes dasselbe geblieben, so daß also in allen Versuchen, bei denen die Diurese ausblieb, das Wasser entweder noch nicht resorbiert war oder schon nach anderen Teilen des Körpers verschoben war, wobei die Blutverdünnung so gering war, daß sie kaum in Erscheinung trat. Intravenös setzt eine Diurese deshalb wohl stets ein, weil die Überflutung des Blutes mit Wasser so groß ist, daß alles von den Geweben nie vollständig aufgenommen werden kann.

Zur weiteren Sicherheit wurde in einigen Fällen neben dem spezifischen Gewicht des Blutes und des Serums auch der Wassergehalt desselben bestimmt. Blix, ein Schüler Bangs, hat eine Mikromethode für die Wasserbestimmung ausgearbeitet. Ich benützte dieselbe, aber ohne Erhitzen des blutgetränkten Papiers auf 100°. Das Blut wurde im Vakuum 24 Stunden aufgehängt, gewogen, wieder 24 Stunden ins Vakuum gebracht und wieder gewogen. Die Resultate waren gute; zur Wägung kamen 200 mg Blut. Die Tabellen I und II zeigen nun nebeneinander die Bestimmungen im Urin und Blut. Es geht daraus

I. Intravenös.

Zeit	Menge	Spez. Gewicht normal	NaClg	NaCl %
8h	35	1015	0,62	1,77
9h	21	1028	0,41	1,95
10h	20	1032	0,43	2,16

Zeit	Menge	Spez. Gewicht	NaClg	NaCl %
		normal		
11h	16	1036	0,37	2,31
12h	35	1023	0,70	2,00
1h	29	1023	0,57	1,97
	156		3,10	
		intravenös + 500 ccm		
8h	230	1007	2,05	0,98
9h	300	1006	2,79	0,93
10h	300	1010	3,36	1,12
11h	170	1010	2,52	1,48
12h	110	1010	1,23	1,12
1h	70	1011	1,01	1,44
	1180		12,96	
		Magen + 500 ccm		
8h	130	1009	1,63	1,18
9h	260	1005	1,79	0,69
10h	36	1018	0,59	1,64
11h	27	1023	0,55	2,02
12h	33	1020	0,52	1,56
1h	32	1027	0,51	1,60
	518		5,59	

Blutuntersuchung bei intravenöser Injektion.

Zeit	Spez. Gewicht		Wassergehalt %		% NaCl des Serums
	Blut	Serum	Blut	Serum	
7h	1058,9	1028,2	81,0	90,1	0,584
1/4 8h	1056,5	1026,6	85,3	95,5	0,622
8h	1057,5	1027,3	82,3	92,8	0,603
9h	1058,6	1028,1	81,0	90,6	0,594

II. Subcutan.

Zeit	Menge	Spez. Gewicht	NaCl g	NaCl %
8h	29	1026	0,52	1,79
9h	21	1028	0,42	1,94
10h	75	1019	0,82	1,10
11h	34	1020	0,46	1,36
12h	42	1024	0,62	1,47
1h	26	1031	0,49	1,90
	227		3,33	

Zeit	Menge	Spez. Gewicht	NaCl g	NaCl %
		subcutan + 500 ccm		
8h	16	1028	0,34	2,14
9h	6	1032	0,16	2,64
10h	25	1030	0,69	2,76
11h	55	1026	1,08	1,96
12h	350	1007	3,26	0,93
1h	495	1009	5,99	1,21
	947		11,52	
		Magen + 500 ccm		
8h	90	1018	2,24	2,49
9h	50	1020	1,46	2,93
10h	75	1020	1,43	1,91
11h	37	1025	0,90	2,44
12h	37	1027	0,72	1,94
1h	55	1026	1,04	1,90
	344		8,79	

Blutuntersuchung bei subcutaner Injektion.

Zeit	Spez. Gewicht		Wassergehalt %		% NaCl des
	Blut	Serum	Blut	Serum	Serums
7h	1057,6	1026,5	81,3	90,6	0,604
8h	1057,3	1026,3	81,3	90,5	0,595
12h	1056,9	1025,8	82,9	92,6	0,612
2h	1056,8	1026,4	81,4	90,9	0,590

wieder hervor, daß die Diurese einsetzt nach Verwässerung des Blutes, das nicht nach den Geweben abgeführt werden kann. Eine Blutbestimmung vor und nach der intravenösen Injektion zeigte eine Verwässerung des Blutes um 4,3%, des Serums um 5,4%. Das spezifische Gewicht des Blutes ist um 2,4% heruntergegangen, was 4,1% Wasser entspricht, das des Serums um 1,6, was 5,7% Wasser entspricht. Das Gewicht des Betreffenden betrug 59 kg, er hatte also ungefähr 5 kg Blut. Durch Zufügen von 500 ccm Kochsalzlösung mußte eine Verwässerung von 9% eintreten. Während der Infusion hat also das Gewebe über die Hälfte aufgenommen. Ähnlich ist es bei der subcutanen Infusion; das zuerst Resorbierte nehmen die Gewebe auf, erst später wird das Blut verwässerter, dann setzt die Diurese ein.

Bei der Durchsicht aller Versuche fiel mir auf, daß häufig bei der Diurese das spezifische Gewicht des Urins, der ganz hell aussah, beinahe oder ganz dem spezifischen Gewicht des ausgeschiedenen Kochsalzes entsprach, so daß der ausgeschiedene Urin hauptsächlich nur aus Kochsalzlösung bestand, die aber verschiedene Konzentration aufweist. Stickstoff war nur in geringer Menge nachzuweisen. In dem zweiten Abschnitt der Tabelle I ist der Prozentgehalt des Kochsalzes 0,98 bzw. 0,93 beim Einsetzen der Diurese; das zugehörige spezifische Gewicht ist 1007, was dem des Urins entspricht. Das gleiche liegt im dritten Abschnitt vor: Kochsalz 1,18 bzw. 0,69 $^0/_0$, das dazugehörige spezifische Gewicht 1009 bzw. 1005, was wiederum dem spezifischen Gewicht des Urins entspricht. Die Tabelle II, Abschnitt 2, weist dieselben Verhältnisse auf, wobei zu beobachten ist, daß die Diurese erst um 12^h eintritt. Der Abschnitt 3 derselben Tabelle hat einige Eigentümlichkeiten. Hier liegt ein Fall vor, in dem per os keine Diurese entsteht. Das spezifische Gewicht des Blutes und des Serums bleibt beinahe dasselbe; dagegen entspricht das spezifische Gewicht der ausgeschiedenen Kochsalzmenge von 8 und 9^h dem spezifischen Gewicht des Urins; der Prozentgehalt ist sehr hoch: 2,49 bzw. 2,93. Es liegt hier keine Wasserdiurese vor, sondern eine eigentliche Kochsalzdiurese; auch in anderen Fällen habe ich Ähnliches beobachtet.

Ergebnis.

Diurese tritt beim Gesunden stets auf bei intravenöser Kochsalztransfusion; sie ist in der ersten Stunde schon vorhanden, wird am größten in der zweiten und dritten Stunde, nimmt dann langsam ab. Sie überschießt fast immer die vermehrte Zufuhr.

Bei subcutaner Kochsalzinfusion tritt häufig nach 3 bis 5 Stunden Diurese auf, jedoch nicht immer.

Bei peroraler Kochsalzwasserzuführung tritt meist nach kurzer Zeit (1 bis 2 Stunden) Diurese auf, die aber schnell wieder zurückgeht.

Es läßt sich nachweisen, daß stets, ehe die Diurese einsetzt, der Blutwasserspiegel erhöht ist. Bei der Diurese wird

häufig ein Urin ausgeschieden, der hauptsächlich aus Kochsalzwasser besteht.

Literatur.

Blix, diese Zeitschr. **74**, 302, 1916.
Cow, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **69**, 393, 1912.
Derselbe, Journ. of Physiology **48**, 1, 1914.
Ginsberg, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **69**, 381, 1912.
Hashimoto, Arch. f. experim. Pathol. u. Pharmakol. **76**, 367, 1914.
Magnus-Alsleben, Münch. med. Wochenschr. **1914**, 1963.
Neubauer, Münch. med. Wochenschr. **1914**, 857.
Nonnenbruch, Arch. f. klin. Med. **110**, 162, 1913.
Schmaltz, Arch. f. klin. Med. **74**, 145, 1891.

Intra- und intermolekular wirkende Kräfte und ihre Bedeutung bei Umlagerungen, bei der Racemisierung und der asymmetrischen Synthese.

Von

Emil Erlenmeyer.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Biologischen Reichsanstalt zu Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 18. Juli 1919.)

Mit 4 Figuren im Text und 1 Tafel.

Die bisher fast ausschließlich in den Kreis der Betrachtung gezogenen interatomistischen Kräfte, die als die Ursache des Zusammenhaltens der Atome im Molekül angesehen werden müssen, bilden die Grundlage unserer heutigen Struktur- und Stereochemie.

Außer diesen von Atom zu Atom wirkenden atomistischen Kräften müssen jedoch auch noch intra- und intermolekulare Kräfte angenommen werden, um das Verhalten und die Veränderungen der fertig gebildeten Moleküle unter bestimmten Bedingungen verstehen zu können.

So hat man z. B. anzunehmen, daß jede im Molekül vorhandene Bindung von Atom zu Atom in ganz bestimmter Weise von allen sonst im Molekül vorhandenen Atomen und deren gegenseitige Stellung zueinander durch Kräfte beeinflußt wird, ide nicht mehr allein von Atom zu Atom, sondern in dem ganzen Atomverband, d. i. dem Molekül, zur Geltung kommen.

Durch die Annahme solcher Kräfte wird es allein verständlich, daß die gleichen Gruppen in verschiedenem Molekularverband ganz verschiedenes Reaktionsvermögen zeigen können, ich erinnere nur an die verschiedenen Funktionen der CH_2,

der NH_2, der OH der COOH-Gruppen, je nach den neben ihnen im Molekül vorhandenen Atomkomplexen[1]).

Eine besonders wichtige Rolle müssen aber intra- bzw. intermolekulare Kräfte bei den intramolekularen Umlagerungen, d. i. bei der Umwandlung strukturisomerer Verbindungen ineinander, als auch bei der Umlagerung strukturgleicher, d. i. stereoisomerer Verbindungen, wie einerseits bei der Umwandlung stereoisomerer, ungesättigter Verbindungen ineinander und andrerseits bei dem Vorgang der Racemisierung, d. i. der Umlagerung optisch aktiver Isomerer und endlich bei der asymmetrischen Synthese spielen.

Intramolekulare Umlagerungen.

Zu den interessantesten Phänomenen der organischen Chemie gehören die intramolekularen Umlagerungen von Verbindungen bestimmter Struktur in isomere Verbindungen einer anderen Struktur.

Bei meinen umfangreichen Untersuchungen auf diesem Gebiete[2]) konnte ich zeigen, daß wohl die meisten dieser Umlagerungen intramolekulare Reaktionen darstellen, d. h. Reaktionen, bei denen Teile des gleichen Moleküls miteinander in Reaktion treten und daß nicht, oder in den seltensten Fällen, die Umlagerung, wie früher angenommen wurde, sich durch vorübergehende Addition und andersartige Abspaltnng einfacher Moleküle, wie z. B. Wasser, vollzieht.

Bei einigen der bekannten Umlagerungen kann die Isomerisation je nach den Bedingungen reversibel verlaufen, in anderen Fällen aber wird eine labile Modifikation durch Vermittelung eines Katalysators dauernd in eine stabile isomere Modifikation umgewandelt.

Bei den hier in Betracht kommenden Fällen handelt es sich um die Umwandlung strukturisomerer Verbindungen unter Platzwechsel von Atomen oder Atomgruppen von einem zu einem anderen mehrwertigen Elementaratom desselben Moleküls.

[1]) Erlenmeyer, Journ. f. prakt. Chem., N. F. **62**, 145, 1900.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **31**, 2224 u. 2238, 1898; **33**, 3001, 1900; **35**, 2438, 3767, 1902; **36**, 916, 919, 2525, 3527, 1903; **37**, 1318, 3124, 1904; Liebigs Annal. **316**, 43, 1901; **333**, 160, 1904; Wallach, Festschrift **1909**, 404.

Über die Art und Weise, wie man sich den Platzwechsel der Atome und Gruppen innerhalb des Moleküls bei diesen Umwandlungen vorstellen kann, habe ich mich schon früher geäußert.

Bedingt sind diese Umwandlungen durch die im Molekül unter den verschiedenen Teilen desselben wirksamen Anziehungskräfte, während der Katalysator dazu dient, den Anstoß zum Platzwechsel zu geben und den Ablauf der Reaktion zu beschleunigen.

Isomerisationen strukturgleicher Verbindungen, Racemisierungen.

Außer den Isomerisationen strukturisomerer Verbindungen, bei denen die Eigenschaftsveränderungen des Moleküls bei gleichbleibender Zusammensetzung und Molekulargewicht, jedoch unter Veränderung der Struktur eintreten, sind aber im Laufe der Zeit auch eine große Reihe von Isomerisationen von strukturgleichen, d. i. stereoisomeren Verbindungen bekannt geworden, bei denen die Eigenschaftsveränderungen nicht nur bei gleichbleibender Zusammensetzung und Molekulargewicht, sondern auch bei gleichbleibender Struktur stattfinden.

Die am eingehendsten untersuchten Fälle sind die bei den ungesättigten zweibasischen Säuren vorkommenden Umwandlungen, z. B. die von der Fumar- in die Maleinsäure.

Auch bei diesen Umwandlungen hat sich die Annahme von vorübergehender Anlagerung und Wiederabspaltung einfacher Moleküle wie Wasser u. a. bei dem Umlagerungsprozeß nicht bewährt und mußte verlassen werden. Auch hier handelt es sich um einen intramolekularen Platzwechsel von Atomen und Gruppen, der aber zum Unterschied von den strukturverschiedenen Isomerisationen an ein und demselben mehrwertigen Elementaratom stattfindet.

Der Anstoß zur Umlagerung wird auch bei diesen Fällen durch Katalysatoren gegeben, während die Richtung, in der die Umlagerung erfolgt, durch die unter den angewandten Bedingungen wirkenden intramolekularen Anziehungskräfte bedingt wird.

Racemisierungen.

Am merkwürdigsten unter diesen stereoisomeren Isomerisationen sind aber die unter der Bezeichnung Racemisierungen zusammengefaßten intramolekularen Umlagerungen oder Atomverschiebungen bei optisch aktiven Molekülen, die ein oder mehrere asymmetrische Kohlenstoffatome enthalten.

Wie bei dem Übergang der isomeren, strukturgleichen, ungesättigten Verbindungen beruht auch hier die Veränderung im Molekül beispielsweise bei der Umwandlung eines rechts-aktiven Moleküls mit einem asymmetrischen Kohlenstoffatom, wie der d-Milchsäure, in das entgegengesetzte links-aktive Molekül, darauf, daß zwei an das nämliche Zentralatom gebundene einwertige Atome oder Radikale ihre Plätze vertauschen.

Das Zustandekommen dieses Platzwechsels kann man sich am besten mit Hilfe der von Werner mitgeteilten Vorstellung an der Hand des Englerschen Modells[1]) verständlich machen.

Der Anstoß zur Umwandlung wird bei den meisten Racemisierungen durch Energiezufuhr in Form von Wärme und in Gegenwart einer meist indifferenten Flüssigkeit gegeben, nur in seltenen Fällen verläuft die Racemisierung auch bei gewöhnlicher Temperatur und ohne Zusatz eines Lösungsmittels.

Während bei den vorher besprochenen Umwandlungen einer Substanz von bestimmten chemischen sowie physikalischen Eigenschaften in eine andere, isomere Substanz mit ganz anderen, sowohl chemischen wie physikalischen Eigenschaften übergeführt wurde, liegen die Verhältnisse ganz anders bei der Umwandlung einer aktiven Substanz in ihren Antipoden bei der Racemisierung.

Wie bereits Pasteur und van't Hoff bervorgehoben haben, sind die als Antipoden bezeichneten Substanzen nicht nur chemisch, sondern auch physikalisch völlig identisch und unterscheiden sich nur durch ihr entgegengesetztes Drehungsvermögen in Lösung und die entgegengesetzte Hemiedrie ihrer Krystalle. Es handelt sich lediglich um die Verschiedenheit eines Bildes von seinem Spiegelbild.

An dem Atommodell betrachtet sieht man leicht, daß der

---

[1]) Werner, Lehrbuch der Stereochemie S. 48.

Übergang von dem d-Molekül in das l-Molekül auf dem Platzwechsel von zwei an einem Zentralatom gebundenen einwertigen Atomen oder Gruppen beruht.

Da die Racemisierung ebensowohl erfolgt ausgehend von der d-Modifikation als von der l-Modifikation, und zwar unter genau den gleichen Bedingungen, so muß angenommen werden, daß der Vorgang in beiden Fällen genau der gleiche ist, nur in umgekehrtem Sinne.

Das außerordentlich Merkwürdige bei der Racemisierung ist also, daß beim Erhitzen identischer d- oder l-drehender Moleküle in einem indifferenten Lösungsmittel eine intramolekulare Atomverschiebung stattfindet unter Bildung chemisch und physikalisch identischer Moleküle von entgegengesetztem Drehungsvermögen und daß der Prozeß zu Ende geht, wenn bei der Hälfte der Moleküle die Umlagerung in die entgegengesetzt drehende Modifikation stattgefunden hat, d. h. wenn sich die gleiche Zahl von d- bzw. l-Molekülen gebildet hat.

Dieser Vorgang läßt sich kaum anders verstehen als durch die Annahme, daß sich die vorhandenen asymmetrischen Moleküle zu je zweien gruppieren und daß dann von dem einen Molekül auf das andere dirigierende Kräfte ausgeübt werden, denen zufolge sodann in dem anderen Molekül eine Umgruppierung in die spiegelbildliche Anordnung der Atome bewirkt wird, oder mit anderen Worten ausgedrückt, bei asymmetrischen Molekülen macht sich gewissermaßen das Bestreben geltend, sich einen entgegengesetzt asymmetrischen Partner zu schaffen unter Bildung eines symmetrischen Doppelmoleküls, des Racemats.

Durch die Schaffung des entgegengesetzt asymmetrischen Partners werden die von dem einseitig asymmetrischen Molekül ausgehenden Kräfte sozusagen neutralisiert. Entsprechend dieser Vorstellung einer Neutralisation zwischen einem d- und einem l-Molekül tritt dann auch bei der Vereinigung der meisten spiegelbildlichen Antipoden eine deutliche Wärmetönung auf.

Es sind nur wenige Beispiele bekannt, bei denen die Antipoden keine Racemate bilden, wie z. B. bei dem d- und l-Asparagin u. a., bei deren Vermischung in Lösung sich auch keine Wärmetönung bemerkbar macht.

Der Vorgang der Racemisierung setzt also voraus, daß von asymmetrischen Molekülen Kräfte ausgehen, die auf andere benachbarte Moleküle und deren atomistische Anordnung einen dirigierenden Einfluß ausüben.

Man hat sich die Wirkung dieser intramolekularen Kräfte den in der Physik bekannten Induktionsvorgängen ähnlich vorzustellen, weshalb ich die Beeinflussung, die von asymmetrischen Molekülen ausgeht, als asymmetrische Induktion bezeichnet habe.

Es war zu erwarten, daß sich die asymmetrische Induktion nicht nur den Molekülen der gleichen Art, wie bei der Racemisierung, sondern mehr oder weniger auch Molekülen anderer Art gegenüber geltend machen würde, sofern diese Moleküle durch ihren Bau die Möglichkeit bieten, den durch die von dem asymmetrischen Molekül ausgehenden Kräften bewirkbaren Lageverschiebungen ihrer Atome nachzugeben.

Von einem sehr interessanten Fall dieser Art berichtet van't Hoff in der 4. Auflage seiner Broschüre auf Seite 8. Danach hat Wallérant beobachtet, daß entgegengesetzt aktive Säuren, wie d- und l-Weinsäure, in einer Schmelze von Malonimid der Ausscheidung von letzterem beim Erstarren eine schraubenförmige Entwickelung und zwar in entgegengesetztem Sinn aufprägen, und es war von Wichtigkeit, zu prüfen, ob sich nicht auch in anderen Fällen die Wirkung der von asymmetrischen Molekülen ausgehenden Kräfte würde nachweisen lassen.

Es ist augenscheinlich, daß diese bisher noch nicht berücksichtigten Kräfte in der lebenden Zelle, die ja vorzugsweise asymmetrische Moleküle hervorbringt und weiter umbildet, eine sehr wichtige Rolle spielen, und veranlaßte mich, zuerst bei dem Vorgang der asymmetrischen Synthese auf die Wirksamkeit dieser Kräfte zu achten.

Asymmetrische Synthese und die Frage nach der Existenzfähigkeit ungesättigter Verbindungen in Form von asymmetrischen, ungesättigten, zweiwertigen Radikalen.

Die größte Zahl von Substanzen, die ein oder mehrere asymmetrische Kohlenstoffatome enthalten, werden von Körpern

mit ungesättigten Gruppen ausgehend dargestellt. So die Milchsäure mit einem asymmetrischen Kohlenstoff aus Brenztraubensäure durch Addition von Wasserstoff an die ungesättigte Carbonylgruppe oder durch Anlagerung von Blausäure an die Carbonylgruppe des Acetaldehyds und darauffolgende Verseifung des Cyanhydrins, die inaktive Phenylchlormilchsäure durch Addition von unterchloriger Säure an Zimtsäure, das inaktive Dibromid der gleichen Säure durch Addition von Brom an Zimtsäure.

Die so synthetisch gebildeten asymmetrischen Additionsprodukte sind stets inaktiv, obwohl sie asymmetrische Kohlenstoffatome enthalten, und müssen daher aus gleichen Mengen einer rechts- und einer links-Modifikation bestehen, ein Beweis, daß bei all diesen Additionen zwei Reaktionen mit gleicher Geschwindigkeit nebeneinander verlaufen, die zu der gleichen Anzahl von d- und l-Molekülen, d. i. dem Racemat, führen.

Der Beweis für die Richtigkeit dieser Schlußfolgerung konnte durch Trennung der Racemate geführt werden.

Betrachtet man nun ein solches d- oder l-Molekül für sich allein und denkt sich den durch die Addition zugeführten Teil des Moleküls wieder weg, so bleibt ein zweiwertiges Radikal übrig, das in seiner Zusammensetzung identisch ist mit der bei der Addition benutzten ungesättigten Verbindung, das aber asymmetrisch ist und zwar d-asymmetrisch, wenn man von einem d-, und l-asymmetrisch, wenn man von einem l-Molekül ausgegangen ist.

Man kann daher sagen, daß jedem asymmetrischen Molekül mit asymmetrischem Kohlenstoffatom ein zweiwertiges, asymmetrisches Radikal zugrunde liegt, und es erhebt sich die für die Stereochemie so überaus wichtige Frage, ob und unter welchen Bedingungen solche asymmetrischen, zweiwertigen Radikale, wenn vielleicht auch nur vorübergehend, existenzfähig sind, oder ob sie, wie bisher angenommen wurde, sofort bei ihrer Entstehung unter Ausgleich der zwei frei werdenden Affinitäten in die ursprüngliche ungesättigte Verbindung mit der sogenannten Doppelbindung zurückverwandelt werden, oder ob endlich, was nach den neuesten Forschungsergebnissen bei den isomeren Zimtsäuren nicht mehr bezweifelt werden kann, Doppelbindungen in den ungesättigten Verbindungen überhaupt nicht enthalten sind, sondern freie Affinitäten, wonach dann die inaktiven Formen

ungesättigter Verbindungen als Racemate einer d- und einer l-Modifikation anzusprechen sind.

Als bestimmtes Beispiel führe ich die von mir in Gemeinschaft mit G. Hilgendorff ausgeführte Regeneration der Zimtsäure aus Phenylbrommilchsäure[1]) an.

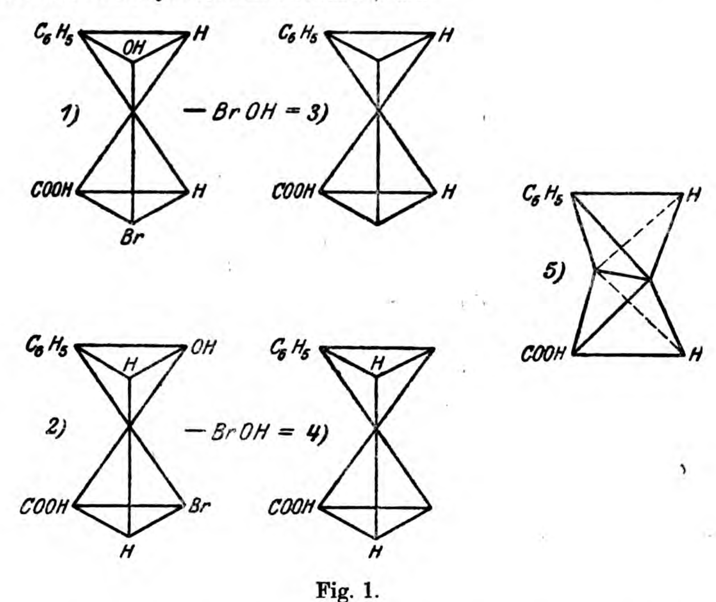


Fig. 1.

Die Formeln 1 und 2 der l- bzw. d-Phenylbrommilchsäure stellen zusammen die racemische inaktive Phenylbrommilchsäure dar. Bei der Abspaltung der Elemente Br und OH daraus müssen zuerst die den beiden spiegelbildlichen Formeln 3 und 4 entsprechenden asymmetrischen Radikale entstehen, die auf Grund ihrer Spiegelbildlichkeit zusammen eine Racemverbindung bilden. Bisher galt die Annahme, daß solche ungesättigte zweiwertige Radikale nicht beständig seien, sondern nach ihrer Freimachung in die identische, durch Fig. 5 zum Ausdruck gebrachte symmetrische Form mit der sogenannten Doppelbindung übergehen.

Geht man dagegen von einer der beiden optisch aktiven Modifikationen 1 oder 2 für sich allein aus, so muß der Versuch ergeben, ob die nach der Abspaltung erhaltene Substanz

[1]) Diese Zeitschr. **35**, 134, 1911.

sich etwa durch die Asymmetrie der Krystalle oder durch Aktivität ihrer Lösung irgendwie von der ursprünglich angewandten inaktiven Zimtsäure unterscheiden läßt.

Den ersten Anlaß zur Anstellung dahingehender Versuche gab der Nachweis der Existenz von mehr als zwei isomeren Zimtsäuren. Danach kann die geometrische Theorie der ungesättigten Verbindungen, die nur zwei isomere Zimtsäuren zuläßt, nicht mehr zutreffend sein, und ebensowenig die damit im Zusammenhang stehende Anschauung, daß in ungesättigten Verbindungen zwei mehrwertige Atome durch zwei parallellaufende, gleichberechtigte Bindungen miteinander verknüpft sind.

An die Stelle der Theorie der geometrischen Isomerie muß dann eine räumliche Auffassung der ungesättigten Verbindungen treten, was nur möglich wird, wenn man die Vorstellung der doppelten Bindung aufgibt und statt dessen sich die ungesättigten Gruppen aus zwei durch einfache Bindung verknüpfte mehrwertigen Atomen mit je einer freien Affinität bestehend denkt.

Diese neue Auffassung ungesättigter Gruppen, die auch von Hinrichsen[1]) und von Stark in seiner Elektronentheorie sowie von Pauly[2]) und schon vor längerer Zeit von L. Spiegel[3]) vertreten wird, steht durchaus nicht im Gegensatz zu irgendeiner experimentellen Tatsache, denn es gibt nur die Möglichkeit, experimentell festzustellen, ob zwei Atome überhaupt miteinander in Bindung stehen, nicht aber ist es möglich, zu beweisen, daß diese Atome durch noch eine zweite Bindung miteinander verknüpft sind.

Die Annahme einer doppelten Bindung war bequem, da sie uns über das Schicksal der nach der Valenztheorie noch disponiblen Affinitäten aufzuklären vermochte. Die vorher bevorzugte Vorstellung von freien Affinitäten kam durch die Hypothese der Doppelbindung trotz des unleugbaren Vorhandenseins freier Affinitäten im Kohlenoxyd außer Gebrauch.

Für die räumliche Auffassung ungesättigter Verbindungen, speziell der Zimtsäuren sprechen nicht nur die von Liebermann bei seiner Iso- und Allozimtsäure festgestellte hemi-

---

[1]) Liebigs Annal. **336**, 168, 1906.
[2]) Diese Zeitschr. 67, 439, 1914.
[3]) Zeitschr. f. anorgan. Chem. 29, 315, 1902.

edrische Ausbildung der Krystalle, sondern auch der Umstand, daß die natürlich vorkommenden Ester der Zimtsäure durchweg mehr oder weniger stark optisch aktiv gefunden worden sind.

Wenn auch in einzelnen Fällen ein Teil diese Aktivität auf die Anwesenheit optisch aktiver Fremdsubstanzen anderer Struktur zurückgeführt werden kann, so wurde ich doch nach Auffindung typisch hemiedrisch ausgebildeter, dem Rohrzucker entsprechender Krystalle der aus ihrem natürlich vorkommenden Ester gewonnenen Zimtsäure in der Ansicht bestärkt, daß man nicht den ganzen Betrag der bei den von der Natur gelieferten Zimtestern beobachteten Aktivität ohne weiteres auf Anwesenheit optisch aktiver Fremdsubstanzen zurückführen dürfe, und entschloß mich daher nach weiterem Beobachtungsmaterial Ausschau zu halten, um die Frage zu entscheiden, inwieweit die räumliche Betrachtungsweise ungesättigter Verbindungen berechtigt und notwendig sei.

Die Berechtigung der räumlichen Betrachtungsweise bei ungesättigten Verbindungen im Speziellen bei der Zimtsäure vorausgesetzt, kann die bisher stets beobachtete Inaktivität bei der freien Säure nicht mehr auf die Symmetrie der Einzelmoleküle der Zimtsäure, wie es die geometrische Auffassung verlangen würde, zurückgeführt werden, man hat vielmehr anzunehmen, daß die Zimtsäuren Racemverbindungen, d. h. Doppelmoleküle vorstellen von zwei spiegelbildlichen, sehr leicht ineinander überführbaren Modifikationen.

Die in einer früheren Abhandlung[1]) bereits erwähnte Eigenschaft der Zimtsäure, mit einsäurigen Basen saure Salze zu bilden, sowie der Umstand, daß nach Erlenmeyer sen. bei Anlagerung von Chlorjod eine Verbindung von einem Molekül Phenylchlorjodpropionsäure mit einem Molekül Zimtsäure entsteht, spricht zugunsten der doppelmolekularen Natur der Zimtsäure.

Die leichte Überführbarkeit der spiegelbildlichen Zimtsäuremodifikationen ineinander mußte aber deshalb gefolgert werden, da bisher weder die Existenz aktiver Zimtsäure noch anderer ungesättigter Verbindungen in aktiver Form nachgewiesen werden konnte, was, die räumliche Auffassung der

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 42, 515, 1909.

Zimtsäuremoleküle als richtig vorausgesetzt, nur verständlich wird, wenn die Aktivität bei Zimtsäuremolekülen sehr leicht durch Racemisierung verschwindet.

Molekulare Asymmetrie bei der Zimtsäure.

Zur Prüfung der räumlichen Betrachtungsweise bei ungesättigten Verbindungen war schon früher versucht worden, Zimtsäure mit Hilfe von aktiven Alkaloiden zu spalten.

Wenn auch bei der Salzbildung mit Alkaloiden Erscheinungen beobachtet werden konnten, wie sie ähnlich bei der Spaltung racemischer Säuren mit asymmetrischen Kohlenstoffatomen zur Beobachtung kommen, so gelang es mit den bisher benutzten Alkaloiden noch nicht, eine Trennung der Zimtsäure in d- und l-Komponenten herbeizuführen, obschon Söllner[1]) bei Zimtsäurekrystallen der aus Brucinsalzen regenerierten Säure Hemiedrie nachgewiesen hat.

Bei der Krystallisation der natürlichen Storaxzimtsäure aus Äther erhält man leicht sehr große, gut ausgebildete Krystalle. Unter diesen hatte ich seinerzeit Krystalle ausgesucht, die eine spiegelbildliche Ausbildung zu besitzen schienen. Bei der Prüfung des einen Teils der ausgesuchten Krystalle in alkoholischer Lösung war eine Drehung von 30′ festgestellt worden, eine Beobachtung, die zu weiteren Versuchen ermunterte.

Am zweckmäßigsten erschien es mir jedoch, die Frage nach dem Bestehen molekular asymmetrischer Zimtsäuren in der eingangs besprochenen Weise, durch Regeneration dieser Säure aus ihren optisch aktiven Additionsprodukten zu prüfen.

Schon bei den ersten in dieser Richtung angestellten Versuchen gelang es, aus aktiver Phenylmilchsäure durch Wasserabspaltung asymmetrisch ausgebildete Zimtsäurekrystalle zu gewinnen.

Beweis für die Existenzfähigkeit aktiver Zimtsäuren.

Den ersten entscheidenden Erfolg für die hier vorliegende Frage gelang es jedoch bei der Regeneration der Zimtsäure aus den leicht darstellbaren d- und l-Phenylbrommilchsäuren zu erzielen.

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **38**, 3562, 1905.

Wie ich in Gemeinschaft mit G. Hilgendorff[1]) gefunden habe, geht die racemische Phenylbrommilchsäure bei der Reduktion mit granuliertem Zink in alkoholischer Lösung unter starker Erwärmung genau zur Hälfte in r-Phenyl-β-milchsäure, zur anderen Hälfte in inaktive Zimtsäure über.

Nach den vorliegenden Beobachtungen ist anzunehmen, daß in der alkoholischen Lösung nach der Reduktion das gemischte Zinksalz von Zimtsäure und Phenylmilchsäure enthalten ist. Denn das beim Eingießen der Reduktionsflüssigkeit in Wasser sich abscheidende zimtsaure Zink mit dem berechneten Zinkgehalt löst sich nicht mehr in Alkohol und muß sich daher durch die Wirkung des Wassers aus einem alkohollöslichen Salz, eben dem gemischten Zinksalz, gebildet haben.

In der nämlichen Weise reagieren die beiden aktiven Phenylbrommilchsäuren bei der Reduktion mit Zink in alkoholischer Lösung, nur mit dem Unterschied, daß die dabei gebildete Phenylmilchsäure optisch aktiv ist, jedoch sehr viel weniger, als man nach der sehr starken Aktivität der alkoholischen Lösung nach der Reduktion erwarten sollte.

Der Umstand, daß die ursprüngliche, die aktive Phenylbrommilchsäure enthaltende alkoholische Lösung durch die Reduktion, bei der nur die Hälfte der aktiven Phenylbrommilchsäure in die weniger drehende Phenylmilchsäure, die andere Hälfte in die bislang nur inaktiv bekannte Zimtsäure übergeht, nicht nur nicht an Aktivität einbüßt, sondern bei einer Reihe von Reduktionen sogar noch an Drehung gewinnt, läßt nur den Schluß zu, daß die in Lösung zugleich mit der aktiven Phenylmilchsäure an Zink gebundene Zimtsäure selbst die Ursache der hohen Aktivität der Reduktionsflüssigkeit ist.

Bei ihrem Eingießen in Wasser findet, wie auch bei den Versuchen mit der r-Säure, die Abscheidung von zimtsaurem Zink statt, dessen Zinkgehalt genau dem für zimtsaures Zink berechneten Wert entspricht und das sich gleichfalls nicht mehr in Alkohol löst.

Alle so aus aktiver Phenylbrommilchsäure gewonnenen

---

[1]) Diese Zeitschr. **35**, 134, 1911.

unlöslichen zimtsauren Zinksalze gaben nach der Zerlegung der Salze durch verdünnte Schwefelsäure und Aufnahme der in Freiheit gesetzten Zimtsäure durch Äther Lösungen, die durchweg optisch aktiv waren und nach der gleichen Richtung drehten, wie die angewandte aktive Phenylbrommilchsäure.

In allen Fällen wurde durch Verdunsten der ätherischen Lösungen Zimtsäure in der charakteristischen β-Form erhalten. Durch Lösen der β-Zimtsäure in Alkohol schieden sich bei einem Versuche fast durchweg hemiedrische α-Zimtsäurekrystalle ab, die die Fläche r nur einseitig enthielten.

Obwohl diese Beobachtungen sehr zugunsten der Annahme sprechen, daß Zimtsäure aus aktiver Phenylbrommilchsäure regeneriert, in molekular asymmetrischer, aktiver Form in ihrer β-Modifikation erhalten wird, waren die nachgewiesenen Drehwerte doch nicht groß genug, um den Einwurf zu widerlegen, daß die Drehung durch geringe Mengen nicht abgetrennter aktiver Phenylmilchsäure veranlaßt sein könnte und daß somit die erhaltenen aktiven Zimtsäurepräparate Gemische von inaktiver Zimtsäure und aktiver Phenylmilchsäure vorstellen könnten.

Es war um so notwendiger, diesen Einwurf zu entkräften, da es tatsächlich gelang, in einigen Präparaten aktiver Zimtsäure die Anwesenheit sehr geringer Mengen aktiver Phenylmilchsäure festzustellen.

Erst durch Herstellung einer Lösung von inaktiver Zimtsäure und aktiver Phenylmilchsäure in Äther von dem nämlichen Drehwert, wie sie eine gleich konzentrierte Lösung durch Reduktion aktiver Phenylbrommilchsäure gewonnenen aktiven Zimtsäure aufwies und Feststellung der Verschiedenheit beider Präparate gelang es, den einwandfreien Beweis zu erbringen, daß in der Tat ein Teil der Aktivität der ätherischen Zimtsäurelösungen aus den Zinksalzen auf die Anwesenheit molekular asymmetrischer, aktiver Zimtsäuremoleküle zurückgeführt werden muß.

Weiterhin handelte es sich darum, eine leicht verständliche Erklärung für die durch diese Versuchen zutage geförderten Tatsachen aufzufinden.

Erklärung der beobachteten Erscheinungen und ihr experimenteller Beweis.

Um eine Erklärung für die beobachteten Erscheinungen zu finden, war es nur nötig, auf die bei den Racemisierungserscheinungen mitgeteilten Vorstellungen zurückzugreifen.

Danach gehen von asymmetrischen Molekülen intra- und intermolekular wirkende Kräfte aus, die auf benachbarte und in Verbindung stehende Moleküle in der Weise umlagernd wirken, daß sich ein entgegengesetzt asymmetrischer Partner bildet, der das asymmetrische Molekül zu einem Doppelmolekül von höherer Symmetrie zu ergänzen bestrebt ist.

Bei der eigentlichen Racemisierung wird dieses Ziel vollkommen erreicht, da der sich bildende Partner genau spiegelbildlich ist.

Bei der Einwirkung dieser von asymmetrischen Molekülen ausgehenden richtenden Kräfte auf andere, veränderliche, in asymmetrischer Lage einstellbare Moleküle wird nur zum Teil eine Ergänzung der Asymmetrie oder eine Neutralisation der vom asymmetrischen Molekül ausgehenden Kräfte erzielt werden können.

Je labiler die durch asymmetrische Orientierung erzielte molekular asymmetrische Lagerung des Partnermoleküls ist, um so leichter wird sie wieder verschwinden, wenn dieses von dem den orientierenden Einfluß ausübenden Molekül getrennt wird.

Die räumliche Betrachtungsweise ungesättigter Verbindungen, zu der die bei den isomeren Zimtsäuren aufgefundenen Tatsachen zwingen, macht es leicht verständlich, daß asymmetrische Moleküle, wie die der aktiven Phenylmilchsäure, ihren asymmetrisch orientierenden Einfluß auf die leicht veränderlichen Zimtsäuremoleküle auszuüben imstande sind.

Man denke sich auf die racemische Zimtsäure eine gleiche Anzahl von beispielsweise d-Phenylmilchsäuremolekülen ihren Einfluß ausüben. Die Hälfte der d-Phenylmilchsäuremoleküle wird nun in der einen Art der spiegelbildlichen Zimtsäuremoleküle einen ihre Asymmetrie ergänzenden Partner vorfinden, während die andere Hälfte der d-Phenylmilchsäure auf die nicht zu ihr passenden, entgegengesetzt asymmetrischen

Zimtsäuremoleküle durch die von ihr ausgehenden orientierenden Kräfte umlagernd einwirkt, wie bei der Racemisierung, und einen Teil dieser Zimtsäuremoleküle in die das d-Phenylmilchsäuremolekül am besten in seiner Asymmetrie ergänzende Konfiguration überführt, [so daß ein Überschuß dieser einen asymmetrischen Zimtsäurekonfiguration entsteht, der sich dann bei der Polarisation der Lösung des gemischten Zinksalzes bemerkbar machen muß.

Eine vollständige Umwandlung der Gesamtmenge der angewandten Zimtsäure ausschließlich in die eine der beiden spiegelbildlichen Konfiguration ist jedoch nicht zu erwarten, da der durch den Einfluß der d-Phenylmilchsäure gebildete Überschuß der einen asymmetrischen Zimtsäuremodifikation sich wieder zu racemisieren strebt, wodurch dem Einfluß der d-Phenylmilchsäure entgegengearbeitet wird.

Bildungsvorgang des gemischten Zinksalzes von aktiver Phenylmilchsäure und aktiver Zimtsäure bei der Reduktion von aktiver Phenylbrommilchsäure mit Zink und Alkohol.

Der bei der Reduktion der aktiven Phenylbrommilchsäure durch Zink und Alkohol stattfindende Vorgang ist daher in der folgenden Weise zu deuten.

In erster Linie wird in allen Phenylbrommilchsäuremolekülen das Brom durch Wasserstoff ausgetauscht unter Bildung nach der gleichen Richtung drehender Phenylmilchsäure. Da nun bei allen Reduktionen nur die Hälfte der theoretisch denkbaren Menge als Phenylmilchsäure, während die andere Hälfte als Zimtsäure gewonnen wird und dieses Mengenverhältnis der beiden Säuren zueinander sich nicht ändern läßt, mithin als konstant zu betrachten ist, so ist anzunehmen, daß bereits in der Reduktionsflüssigkeit die Hälfte der sich bildenden aktiven Phenylmilchsäure durch Drehung in eine andere der drei relativ isomeren Modifikationen umgewandelt wird, in der sie leichter unter Wasserabspaltung in Zimtsäure übergeht, als in der aus der Reduktionsflüssigkeit abscheidbaren Modifikation. Für diese Annahme spricht der Umstand, daß die durch Reduktion erhaltene Zimtsäure in allen Fällen aus β-Zimtsäure besteht.

Die Umwandlung der Hälfte der sich durch Reduktion

bildenden aktiven Phenylmilchsäure in die leichter Wasser abspaltende, relativ isomere Phenylmilchsäuremodifikation muß auf die nämliche, auch bei der Racemisierung wirksame Kraft zurückgeführt werden, die auch die durch Wasseraustritt gebildete, bereits asymmetrische Zimtsäure in ihrer Konfiguration erhält.

Die asymmetrische Zimtsäure und die unverändert gebliebene aktive Phenylmilchsäure gehen nach ihrer Bildung in ein in Alkohol lösliches gemischtes Zinksalz über, dessen Drehungsvermögen, obwohl die Hälfte der aktiven Phenylbrommilchsäure durch die Reaktion verschwunden ist, dem vor Eintritt der Reaktion beobachteten gleichbleibt, in vielen Fällen sogar ansteigt, was nur möglich erscheint unter der Voraussetzung, daß die an Stelle der verschwindenden aktiven Phenylmilchsäure entstehende Substanz, d. i. die Zimtsäure in molekular asymmetrischer, aktiver Form in dem gemischten Zinksalz vorhanden ist.

Da bekanntlich sowohl rechts- als auch linksdrehende Substanzen der nämlichen Konfigurationsreihe angehören können und da deshalb der Nachweis entgegengesetzten Drehungsvermögens kein Beweis ist für die entgegengesetzt asymmetrische Konfiguration, so kann auch die Einstellung einer ungesättigten Verbindung in der der angewandten Substanz entgegengesetzten Konfiguration ebensowohl eine Erhöhung des Drehungsvermögens der aus der aktiven und aus der ungesättigten, beeinflußten Substanz gebildeten Kombination, als auch eine Verminderung ihres Drehungsvermögens zur Folge haben, eine Schlußfolgerung, deren Richtigkeit sich aus einem weiter unten mitgeteilten Versuche klar ergibt.

Daß bei der Abtrennung der labilen, asymmetrisch eingestellten aktiven Zimtsäure aus dem Verband mit der aktiven Phenylmilchsäure, deren asymmetrisch orientierender Einfluß aufgehoben wird und ein Teil der Aktivität der Zimtsäure durch Racemisierung wieder verschwindet, ist nach dem Gesagten nicht weiter auffällig.

So einleuchtend auch diese Erklärung für das Verständnis der beobachteten Erscheinungen ist, so war es doch sehr wertvoll, daß sich der folgende, jeden Zweifel ausschließende ex-

perimentelle Beweis für die Richtigkeit der gegebenen Erklärung auffinden ließ.

Bildung des gemischten Zinksalzes von inaktiver Zimtsäure und aktiver Phenylmilchsäure aus den Komponenten und Beweis für die Aktivität der in dem Salz enthaltenen Zimtsäure.

Wenn die hier mitgeteilte Anschauung zutreffend ist, daß die Erhaltung bzw. Erhöhung der Drehung des bei der Reduktion der aktiven Phenylbrommilchsäure mit Zink und Alkohol gebildeten gemischten Zinksalzes von aktiver Phenylmilchsäure und Zimtsäure auf der Anwesenheit der Zimtsäure in der entgegengesetzten Konfiguration jedoch von dem gleichgerichteten Drehungsvermögen beruht, das vollständig erhalten bleibt, solange die asymmetrische Zimtsäure in direkter Bindung mit dem aktiven Phenylmilchsäuremolekül steht und erst nach Abtrennung des asymmetrischen Zimtsäuremoleküls zum Teil wieder verschwindet, so war es wahrscheinlich, daß man genau zu den gleichen Erscheinungen gelangen würde bei Herstellung des gleichen, gemischten Zinksalzes, ausgehend von aktiver Phenylmilchsäure und inaktiver Zimtsäure in alkoholischer Lösung, nur mit dem Unterschied, daß bei der Herstellung dieses Salzes aus den fertigen Komponenten die Zimtsäure als solche durch die von der aktiven Phenylmilchsäure ausgehenden, asymmetrisch orientierenden Kräfte in der einen ihrer asymmetrischen Konfigurationen eingestellt wird, während diese bei den Reduktionsversuchen bereits in aktiver Form entsteht.

Die bereits früher[1]) in Kürze mitgeteilten Versuche haben diese Erwartung vollauf bestätigt.

Bromaddition an das gemischte Zinksalz von d-Phenylmilchsäure und inaktiver Zimtsäure; Bildung von l-Dibromid.

Eine Lösung von 1 Mol d-Phenylmilchsäure ($[\alpha_D] = + 20{,}4^0$ in Alkohol) und 1 Mol inaktive Zimtsäure in absolutem Alkohol zeigte den der aktiven Phenylmilchsäure entsprechenden Drehungswinkel, nämlich $\alpha = + 1{,}78^0$. Setzt man nun zu dieser Lösung 1 Mol Zinkoxyd und 2 Mol Bromzink ent-

---

[1]) Diese Zeitschr. **43**, 445, 1912.

sprechend der bei der Reduktion der aktiven Phenylbrommilchsäure entstehenden Menge und erwärmt auf dem Wasserbad unter Ersatz des verdampfenden Alkohols, so geht der größte Teil des Zinkoxyds in Lösung. Die gebildete Lösung zeigt eine außerordentliche Erhöhung in ihrem Drehungsvermögen im Vergleich zu dem der angewandten Phenylmilchsäure, nämlich von $\alpha = +1{,}78^0$ bis auf $\alpha = +6{,}85^0$.

Diese auffallende Zunahme des Drehungsvermögens der das gemischte Zinksalz von d-Phenylmilchsäure und Zimtsäure enthaltenden Lösung läßt sich nicht anders verstehen, als durch die Annahme, daß das Molekül der d-Phenylmilchsäure einen Teil der in der inaktiven, racemischen Zimtsäure enthaltenen Komponenten vorzugsweise in die die Asymmetrie der d-Phenylmilchsäure am besten ergänzende asymmetrische Konfiguration gebracht hat, in der sie sich auf den polarisierten Lichtstrahl wirksam zeigt, so daß das ursprünglich nur geringe, von der aktiven Phenylmilchsäure herrührende Drehungsvermögen etwa vervierfacht wird.

Diese Vorstellung als richtig vorausgesetzt, war zu erwarten, den gebildeten Überschuß der asymmetrischen Zimtsäuren durch Bromaddition an das gemischte Zinksalz in Form von stabilem aktivem Dibromid festlegen zu können.

Durch Verdunsten des Alkohols gelang es, das in Lösung befindliche gemischte Zinksalz als einen amorphen, durchsichtigen farblosen Rückstand zu gewinnen.

Beim Übergießen mit warmer Chloroform löste er sich bis auf einen minimalen pulvrigen Rest auf. Nach dem Erkalten wurde die für die in Lösung befindliche Menge Zimtsäure berechnete Menge Brom in Chloroformlösung allmählich zugesetzt. Die Entfärbung fand sehr rasch und vollständig statt. Der nach dem Verdunsten des Chloroforms hinterbleibende gallertartige Rückstand enthielt das entstandene Dibromid neben der angewandten aktiven Phenylmilchsäure an Zink gebunden. Durch Zusatz von verdünnter Schwefelsäure wurden die beiden genannten Säuren in Freiheit gesetzt und sodann mit Äther vollständig ausgeschüttelt; das nach dem Verdunsten des Äthers verbleibende Säuregemisch wurde durch Ausschütteln mit Wasser, in der das Dibromid nicht, die Phenylmilchsäure auch in der Kälte reichlich löslich ist, getrennt.

Nach viermaligem Ausschütteln ging nichts mehr in Lösung. Die Ätherauszüge des hintereinander gewonnenen, phenylmilchsäurehaltigen Schüttelwasser drehten $\alpha = +5{,}78^0; +4{,}26^0; +0{,}48^0; +0{,}02^0$.

Der ätherische Auszug des fünften Schüttelwassers war inaktiv.

Die in Wasser ungelöst gebliebene Substanz besaß die Eigenschaften des Zimtsäuredibromids. Ihre ätherische Lösung drehte im 2-dm-Rohr:

$$\alpha = -2{,}20^0.$$

Das aus Chloroform umkrystallisierte Dibromid enthielt die für diese Substanz berechnete Brommenge und zeigte den Schmelzpunkt des Dibromids 204°. Eine große Menge der gut ausgebildeten Krystalle war hemiedrisch. In ätherischer Lösung wurde das Drehungsvermögen

$$[\alpha]_D = -5{,}4^0$$

festgestellt.

Von besonderer Wichtigkeit ist es, daß das auf diese Weise entstandene Dibromid die der angewandten, aktiven Phenylmilchsäure entgegengesetzte Drehungsrichtung besitzt, und zwar deshalb, weil dadurch der naheliegende Einwurf, die Aktivität des Dibromids könnte durch Beimengung der zum Versuch benutzten d-Phenylmilchsäure bedingt sein, ein für allemal hinfällig wird.

Man muß annehmen, daß die dem linksdrehenden Dibromid zugrunde liegende asymmetrische Zimtsäurekonfiguration in dem mit der d-Phenylmilchsäure gebildeten, gemischten Zinksalz, obwohl sie die entgegengesetzte Konfiguration besitzt, die Rechtsdrehung der d-Phenylmilchsäure erhöht und nach ihrem Drehungseffekte daher als Rechtszimtsäure, nach ihrer Konfiguration dagegen als Linkszimtsäure anzusprechen ist[1]).

---

[1]) Wie wir neuerdings festgestellt haben, drehen, abweichend von einer früheren Angabe, die der nämlichen Konfigurationsreihe angehörenden aktiven Dibromide und Phenyl-α-Halogenmilchsäuren sowie Phenyl-β-milchsäuren nach der gleichen Richtung.

Bromaddition an das gemischte Zinksalz von l-Phenylmilchsäure und inaktiver Zimtsäure; Bildung von d-Dibromid.

Ein zweiter in der nämlichen Weise mit linksdrehender Phenylmilchsäure angestellter Versuch ergab bei der Bildung des gemischten Zinksalzes eine Zunahme der Drehung von $\alpha = -1{,}76^{0}$ auf $\alpha = -3{,}84^{0}$. Diese im Vergleich zu dem vorhergehenden Versuch geringere Drehungszunahme ist voraussichtlich durch geringere Energiezufuhr zu erklären.

Das in der nämlichen Weise herausgearbeitete Zimtsäuredibromid drehte nach rechts und schmolz bei 204^{0}. In ätherischer Lösung wurde das Drehungsvermögen

$$[\alpha]_D = +3{,}9^{0}$$

gefunden.

Bromaddition an die durch Reduktion von l- bzw. d-Phenylbrommilchsäure mit Zink und Alkohol entstehenden gemischten Zinksalze von aktiver Phenylmilchsäure und Zimtsäure.

In Übereinstimmung mit diesen Versuchsergebnissen wurde ausgehend von l-Phenylbrommilchsäure nach der Reduktion und Bromaddition an das gemischte Zinksalz d-Dibromid, dagegen ausgehend von d-Phenylbrommilchsäure das l-Dibromid erhalten, woraus sich die Übereinstimmung des durch Reduktion von aktiver Phenylbrommilchsäure einerseits und durch Einwirkung der Komponenten aufeinander andrerseits gebildeten gemischten Zinksalze ergibt.

Die Versuche liefern den einwandfreien Beweis, daß ungesättigte Verbindungen, wie die Zimtsäure, durch Kombination mit einer aktiven Substanz, wie der aktiven Phenylmilchsäure, durch die von dieser ausgehenden, richtenden Kräfte unter Anwachsen des Drehungsvermögens vorzugsweise in eine der beiden asymmetrischen Konfigurationen gebracht werden können, die zum Teil auch nach der Trennung weiter besteht, *deren Vorhandensein sich aber leicht und sicher durch Überführung in die aktiven Dibromide nachweisen läßt, deren Drehungsvermögen dem der angewandten Phenylmilchsäure entgegengesetzt gefunden wird.*

Ein weiteres wichtiges Ergebnis dieser Versuche ist aber

zugleich, daß sie die absolute Notwendigkeit der räumlichen Auffassung ungesättigter Verbindungen beweisen, die ihren ungezwungenen Ausdruck findet in der von mir entwickelten erweiterten Theorie von van t'Hoff[1]).

Endlich aber verbreiten diese Versuche volles Licht über das Wesen der von Emil Fischer als asymmetrische Synthesen bezeichneten Reaktionen.

Bei den meisten bekannt gewordenen asymmetrischen Synthesen wurden ungesättigte Gruppen, die in fester chemischer Bindung — meist Esterbindung — stehen mit optisch aktiven, asymmetrischen Gruppen, durch Addition von einfachen Molekülen in gesättigte Gruppen mit asymmetrischem Kohlenstoff übergeführt. Es zeigte sich dann, daß nach Abtrennung der neu gebildeten Gruppe mit asymmetrischem Kohlenstoff, eine diese Gruppe enthaltende Verbindung erhalten wird, die eine deutliche, wenn auch meist nicht sehr erhebliche optische Aktivität besitzt, wohingegen die nämliche ungesättigte Gruppe, in Verbindung mit symmetrischen Gruppen, nach Addition der nämlichen einfachen Moleküle, in gesättigte Gruppen, mit den nämlichen asymmetrischen Kohlenstoffatomen übergehen, jedoch nach ihrer Abtrennung stets in Form einer optisch inaktiven Racemverbindung erhalten werden.

Dieser Vergleich läßt deutlich den Einfluß der aktiven Gruppe auf die ungesättigte Gruppe erkennen.

Wie bei der soeben beschriebenen Gewinnung aktiven Zimtsäuredibromids aus den gemischteu Zinksalzen von aktiver Phenylmilchsäure und inaktiver Zimtsäure hat man auch bei den mit Hilfe anderer ungesättigter Verbindungen ausgeführten asymmetrischen Synthesen anzunehmen, daß die ungesättigten Gruppen, induziert durch den damit in Verbindung stehenden optisch aktiven Teil des Moleküls, vorzugsweise in der einen der beiden denkbaren asymmetrischen Konfigurationen eingestellt werden, die dann naturgemäß bei darauf folgender Aufnahme der einfachen Moleküle unter Bildung gesättigter Gruppen mit asymmetrischem Kohlenstoff zu einem Überschuß der einen asymmetrischen Form führen muß, deren Vorhandensein sich durch Abtrennung und Feststellung der Aktivität der die neu-

---

[1]) Diese Zeitschr. 67, 346, 1914.

gebildete Gruppe enthaltenden Verbindung nachweisen lassen muß.

In meiner Abhandlung[1]): Theoretische Betrachtungen über die Isomerie bei Äthylenderivaten (Seite 160) habe ich darauf hingewiesen, daß bei ungesättigten Verbindungen eine besonders leicht stattfindende Umwandlung der entgegengesetzt asymmetrischen Konfigurationen ineinander zu erwarten ist. Die dort mitgeteilte Vorstellung macht es nicht nur verständlich, daß asymmetrische Komponenten ungesättigter Verbindungen so leicht racemisiert werden, so daß deren Existenz bisher nicht nachgewiesen werden konnte, sondern auch, daß bei der asymmetrischen Synthese, durch den die asymmetrische Induktion bewirkenden Teil des Moleküls die damit in Bindung stehende ungesättigte Verbindung vorzugsweise in der einen asymmetrischen Konfiguration eingestellt werden kann, was dann, nach der Aufnahme einfacher Moleküle, die Bildung eines leicht nachweisbaren Überschusses der einen aktiven Form der neugebildeten Verbindung mit asymmetrischem Kohlenstoff zur Folge hat.

Das Wesen der von ungesättigten Verbindungen ausgehenden asymmetrischen Synthese besteht hiernach nicht darin, daß bei der Addition einfacher Moleküle an eine, an sich symmetrische, ungesättigte Verbindung die Bildung des einen der denkbaren asymmetrischen Moleküle bevorzugt wird, sondern darin, daß die racemische ungesättigte Verbindung bereits vor der asymmetrischen Synthese vorzugsweise in der einen asymmetrischen Konfiguration eingestellt wird, wodurch der partielle asymmetrische Verlauf der Synthese bedingt wird.

Um diese merkwürdige, von asymmetrischen aktiven Molekülen ausgehende Kraft, die andere veränderliche, besonders ungesättigte Verbindungen in asymmetrischer Konfiguration einzustellen bestrebt ist, noch weiter zu begründen, waren seinerzeit noch die folgenden Versuche angestellt worden, deren Ergebnisse sich heute nach weiterem Eindringen in dieses schwierige, neue Gebiet unschwer deuten lassen.

---

[1]) Diese Zeitschr. 35, 149, 1911.

Weitere Untersuchungen mit der bei der Reduktion der aktiven Phenylbrommilchsäure durch Zink und Alkohol entstehenden schwach aktiven Zimtsäure.

Nach Versuchen von G. Hilgendorff.

Wenn auch die Bildung der entgegengesetzt aktiven Zimtsäuredibromide aus den, bei der Reduktion der aktiven Phenylbrommilchsäure mit Zink und Alkohol entstehenden, gemischten Zinksalzen von Phenylmilchsäure und Zimtsäure bei der Bromaddition, sowie die Bildung entgegengesetzt aktiver Zimtsäuredibromide durch Bromaddition an die beim Erhitzen von 1 Mol inaktiver Zimtsäure mit 1 Mol aktiver Phenylmilchsäure und 1 Mol Zinkoxyd in alkoholischer Lösung entstehenden, gemischten Zinksalze der nämlichen Säuren beweist, daß das Zimtsäuremolekül im Verband mit dem Molekül der aktiven Phenylmilchsäure und dem Zink vorwiegend in eine molekular asymmetrische Konfiguration gebracht wird, die sodann nach der Bromaddition in dem gebildeten aktiven Dibromid in Erscheinung tritt, so war es doch angezeigt, zu untersuchen, ob es nicht möglich wäre, auch bei der aus dem genannten Molekularverband in Freiheit gesetzte Zimtsäure den sicheren Nachweis zu liefern, daß wenn vielleicht auch nicht die ganze, so doch ein Teil der stets zu beobachtenden Aktivität der so gewonnenen Zimtsäuren auf das Vorhandensein aktiver, molekular asymmetrischer Zimtsäuremoleküle zurückzuführen ist.

Beweise für das Vorhandensein aktiver Zimtsäuremoleküle in den durch Reduktion aktiver Phenylbrommilchsäure gewonnenen schwach aktiven Zimtsäuren.

Die Durchführung dieser Versuche setzt die Kenntnis des Drehungsvermögens und der Löslichkeit der neben aktiver Zimtsäure bei der Reduktion der aktiven Phenylbrommilchsäure mit Zink und Alkohol entstehenden aktiven Phenylmilchsäuren voraus.

Zur Kenntnis der aktiven Phenylmilchsäuren.

Die Rechts- und Links-Phenyl-β-Milchsäure[1]) wurde zuerst in Gemeinschaft mit Rabbethge und Barkow aus der Rechts-

[1]) Ber. der Deutsch. chem. Ges. **39**, 788, 1906.

bzw. Links-Phenylbrommilchsäure durch Reduktion mit Natriumamalgam hergestellt.

Der Schmelzpunkt der aktiven Säuren lag bei 116°, während die racemische Säure bei 93° schmilzt.

Das spezifische Drehungsvermögen, in absolut alkoholischer Lösung gemessen, betrug $[\alpha]_D = +19°$ bzw. $-18{,}81°$.

Viel bequemer ist die Darstellung der beiden aktiven Phenylmilchsäuren durch Reduktion der aktiven Phenylbrommilchsäuren mit Zink und Alkohol, so wie sie früher bereits beschrieben wurde[1]).

Zur Gewinnung von Präparaten höchsten Drehungsvermögens wurde auf diesem Wege dargestellte Rechts- bzw. Links-Phenylmilchsäure aus Chloroform, in der die racemische Säure viel leichter löslich ist als ihre aktiven Komponenten, 2 mal umkrystallisiert und jedesmal das Drehungsvermögen der ausgeschiedenen Säure bestimmt.

Eine 2,5%ige ätherische Lösung der ersten Krystallisation im 2-dm-Rohr drehte bei der

	Rechts-Phenylmilchsäure	Links-Phenylmilchsäure
	+2,37°	−2,37°
d. i.	$[\alpha]_D = \pm 47{,}40°$.	

Die zweite Krystallisation der Rechtssäure zeigte den gleichen Drehungswinkel, während die der Links-Säure nur um 0,06° stärker drehte.

Man darf daher annehmen, daß Präparate vom Drehungsvermögen $[\alpha]_D = \pm 47{,}40°$ frei von Racemverbindung sind, zumal da die folgenden vergleichenden Löslichkeitsbestimmungen von d-, l- und r-Phenylmilchsäure in Chloroform zeigen, daß die racemische Säure fast 3 mal so löslich ist als die aktiven Säuren.

Löslichkeitsbestimmung der beiden aktiven, sowie der racemischen Phenylmilchsäure in Chloroform.

Je 1,5 g der beiden Phenylmilchsäuren vom Drehungvermögen $[\alpha]_D = \pm 47{,}4°$ sowie der aus Chloroform krystallisierten racemischen Phenylmilchsäure wurden mit je 13 ccm Chloroform in einem Kölbchen übergossen und sodann nach gelindem Erwärmen auf dem Wasserbad 4 Stunden bei 19,5° stehen gelassen. Von ungelöster Substanz wurde je in einen Meßzylinder filtriert. Nach Ablesung der Volumina und nach Verjagen des Chloroforms wurde in alkoholischer Lösung die Menge der vom Chloroform aufgenommenen Säure titrimetrisch bestimmt.

---

[1]) Diese Zeitschr. **35**, 134, 1911.

	Volumen der Lösung	Verbr. Kubikzentimeter der n/10-Natronlauge
d-Phenylmilchsäure	9,2 ccm	5,18 ccm
l-Phenylmilchsäure	9,2 „	5,14 „
r-Phenylmilchsäure	6,1 „	9,98 „

Daraus berechnet sich die Löslichkeit für je 1 g:

1 g d-Phenylmilchsäure löst sich in 108 ccm Chloroform
1 g l-Phenylmilchsäure „ „ „ 108 „ „
1 g r-Phenylmilchsäure „ „ „ 36,9 „ „

Bei der so beträchtlich geringeren Löslichkeit der aktiven Phenylmilchsäure, im Vergleich mit der der Racemsäure muß sich eine geringe Menge der Racemsäure durch wiederholte Krystallisation aus Chloroform leicht aus einem Gemisch von vorwiegend aktiver Säure und einer geringen Menge Racemsäure vollständig entfernen lassen[1]).

Löslichkeitsbestimmung der aktiven und der racemischen Phenylmilchsäure in Wasser.

Die Löslichkeitsbestimmung in Wasser wurde ebenso ausgeführt wie die in Chloroform. Wie die Resultate erkennen lassen, sind auch in Wasser die beiden aktiven Modifikationen bedeutend schwerer löslich als die Racemsäure.

	Volumen der Lösung	Verbr. Kubikzentimeter der n/10-Natronlauge
Rechts-Phenylmilchsäure . .	6,80 ccm	6,78 ccm
Links-Phenylmilchsäure . .	7,75 „	7,68 „
Rac. Phenylmilchsäure . . .	6,30 „	14,04 „

Daraus berechnen sich die folgenden Löslichkeitsverhältnisse:

1 g d-Phenylmilchsäure löst sich in 60,4 ccm H_2O
1 g l-Phenylmilchsäune „ „ „ 60,8 „ „
1 g r-Phenylmilchsäure „ „ „ 27,0 „ „

Da 1 Teil Zimtsäure in 3500 Teilen Wasser löslich ist, so ergibt sich daraus, daß ein Gemisch von viel Zimtsäure und wenig Phenylmilchsäure durch Wasser vollständig von letzterer Säure befreit werden kann.

---

[1]) Ob der bei einem früher dargestellten Präparate aktiver Phenylmilchsäure in ätherischer Lösung gefundene höhere Drehwert von $[\alpha]_D = 54,3^0$ auf relative Isomerie zurückzuführen ist, müssen weitere Versuche lehren. Der früher angegebene Wert $57,3^0$ beruht auf einem Druckfehler.

Drehungsvermögen der rechtsdrehenden d-Phenylmilchsäure in Wasser.

Eine 1,6 $^0/_0$ige wäßrige Lösung der zweimal aus Chloroform krystallisierten d-Phenylmilchsäure drehte im 2-dm-Rohr:

$$\alpha = + 0{,}61^0,$$

$$\text{d. i. } [\alpha]_D = + 10{,}4^0.$$

Versuche der durch Reduktion aktiver Phenylbrommilchsäure gewonnenen aktiven Zimtsäure die letzten Reste etwa beigemengter aktiver Phenylmilchsäure durch Wasser zu entziehen.

Wenn die Aktivität der auf dem genannten Wege erhaltenen Zimtsäuren nicht von der Asymmetrie der Zimtsäuremoleküle, sondern allein von der Beimengung gleichzeitig gebildeter aktiver Phenylmilchsäure abhängig war, so mußte es möglich sein, durch Behandlung mit geeigneten Lösungsmitteln, in denen die Phenylmilchsäure leichter löslich ist als die Zimtsäure, die letzten Reste der aktiven Phenylmilchsäure zu entfernen und inaktive Zimtsäure zurückzubehalten.

Wie die bisherigen Versuche gelehrt haben, entsteht bei der Reduktion der Phenylbrommilchsäure in der alkoholischen Lösung ein gemischtes Zinksalz von aktiver Phenylmilchsäure und Zimtsäure, das sich dann durch Wasser umsetzt in das wasserlösliche Zinksalz der aktiven Phenylmilchsäure und das in Wasser unlösliche Zinksalz der Zimtsäure, aus dem durch Zerlegung mit verdünnter Schwefelsäure und Aufnehmen mit Äther die ätherischen Lösungen aktiver Zimtsäuren erhalten werden.

Die quantitative Verfolgung dieser Reaktion hat übereinstimmend ergeben, daß sich aus den Filtraten des durch Wasserzusatz abgeschiedenen zimtsauren Zinks die äquimolekulare Menge aktiver Phenylmilchsäure gewinnen läßt und daß das durch Wasser abgeschiedene zimtsaure Zink nach genügendem Auswaschen genau die für zimtsaures Zink berechneten Zinkmengen enthält.

Danach konnte man von vornherein nicht mit der Anwesenheit nennenswerter Mengen aktiver Phenylmilchsäure in den aus den Zinksalzen abgeschiedenen aktiven Zimtsäuren

rechnen. Es war daher zu erwarten, daß ein aus sorgfältig gereinigtem Zinksalz gewonnenes Präparat aktiver Zimtsäure beim Waschen mit Wasser leicht die etwa noch vorhandenen kleinen Reste beigemischter Phenylmilchsäure an dieses abgeben würde, da, wie oben gezeigt, die Phenylmilchsäure so sehr viel leichter in Wasser löslich ist als Zimtsäure.

Ließ sich auch nach sehr oft wiederholter Behandlung mit Wasser, wobei es natürlich nicht zu vermeiden ist, daß auch Zimtsäure mit in die wäßrige Lösung eingeht, ein sicher nachweisbarer Rest von Aktivität feststellen, so konnte man mit Bestimmtheit annehmen, daß ein Teil der Aktivität des Präparats auf die Anwesenheit freier, molekular asymmetrischer Zimtsäuremoleküle zurückgeführt werden müsse.

Versuch 1.

32 g Rechts-Phenylbrommilchsäure wurden in 64 ccm Alkohol gelöst. Die Lösung, die ein Volumen von 84 ccm hatte, drehte im 10-cm-Rohr im Mittel von 4 Ablesungen:

$$\alpha = + 7{,}15^{\circ}.$$

Zu der in zwei gleiche Teile geteilten Lösung wurden je 32 g Zinkspäne gegeben. Der Eintritt der Reaktion macht sich durch ein lebhaftes Aufkochen unter starker Temperatursteigerung bemerkbar. Eine halbe Stunde nach Beendigung der Reaktion drehte die auf das ursprüngliche Volumen gebrachte Lösung im 10-cm-Rohr:

$$\alpha = + 7{,}12^{\circ}.$$

Das Zink wurde nach der Filtration mit Alkohol gewaschen und die vereinigten alkoholischen Lösungen von 140 ccm in das 4 fache Volumen Wasser gegossen. Das ausgefällte Zinksalz wurde abgesaugt und mit Wasser ausgewaschen. Danach nochmals im Mörser verrieben, abgesaugt und ausgewaschen, bis das Waschwasser eine Halogenreaktion nicht mehr erkennen ließ. Nach dem Trocknen wurde das Salz noch mit Äther gewaschen und aufs neue getrocknet.

Das 10,5 g wiegende Salz wurde sodann mit verdünnter Schwefelsäure zersetzt und die freigemachte Zimtsäure in Äther aufgenommen.

Die ätherische Lösung von dem Volumen 76 ccm drehte im 20-cm-Rohr:

$$\alpha = + 0{,}31^{\circ}.$$

Zur Entfernung der letzten Reste eventuell noch beigemengter Phenylmilchsäure wurde die Hälfte der ätherischen Lösung von 38 ccm im ganzen 9 mal mit wenig Wasser durchgeschüttelt.

Nach 3 maligem Schütteln drehte die Lösung, auf das ursprüngliche Volumen gebracht, im 20-cm-Rohr:

$$\alpha = + 0{,}15^{\circ}.$$

Nach 9 maligem Schütteln sank die Drehung auf:

$$\alpha = + 0{,}08^0$$

und zeigte nach 3 weiteren Schüttelungen den gleichen Drehwert von:

$$\alpha = + 0{,}08^0.$$

Bei der beträchtlichen Löslichkeit der Phenylmilchsäure in Wasser muß man annehmen, daß nach 12 maligem Ausschütteln mit Wasser die letzten Reste noch etwa anhaftender Phenylmilchsäure entfernt worden sind, um so mehr, als die letzten drei Ausschüttelungen mit Wasser ein weiteres Sinken im Drehwert nicht mehr zur Folge hatten.

Die Aufarbeitung des Schüttelwassers, deren eingehende Beschreibung zu weit führen würde, ergab, daß nicht nur geringe Mengen aktiver Phenylmilchsäure, sondern auch von der viel schwerer in Wasser löslichen aktiven Zimtsäure in Lösung gegangen war.

Der Versuch lehrt, daß selbst nach 12 maligem Ausschütteln mit Wasser die Aktivität nicht völlig verschwindet, woraus sich ergibt, daß zum mindesten die nach 9 maligem, sowie nach 12 maligem Ausschütteln beobachteten gleichen Drehwerte von $\alpha = + 0{,}08^0$ auf die Anwesenheit molekularer asymmetrischer Zimtsäuremoleküle zurückzuführen sind.

Versuch 2.

Noch offensichtlicher wurde die Anwesenheit molekularer asymmetrischer Zimtsäuremoleküle in den aus dem gereinigten Zinksalz erhaltenen aktiven Zimtsäurepräparaten, wenn die Aktivität sich nach der Krystallisation aus heißem Wasser erhalten ließ, da anzunehmen war, daß die etwa noch beigemengte aktive Phenylmilchsäure auf Grund ihrer sehr viel größeren Löslichkeit in Wasser von diesem in Lösung gehalten wurde.

Zu diesem Zwecke wurde von der zweiten Hälfte der obigen ätherischen Lösung (38 ccm) ein Teil von 12 ccm in einem Becherglas verdunstet. Dabei blieben Storax-α-säure-Krystalle zurück, die bei 132 bis 133^0 schmolzen. Auf Grund einer Titration mit $^n/_{10}$-Natronlauge berechnete sich das Molekulargewicht auf 148,3, während das Molekulargewicht der Zimtsäure 148 beträgt.

Die Gesamtmenge der ausgeschiedenen Säure wurde nunmehr in heißem Wasser gelöst. Die beim Erkalten abgeschiedene Substanz wurde scharf abgesaugt und ausgewaschen. In Äther gelöst drehte die Säure im 2-dm-Rohr noch

$$\alpha = +0{,}13^{0},$$

einem $[\alpha]_D$ von ca. $+1{,}0^0$ entsprechend.

Bei der großen Löslichkeit der Phenylmilchsäure darf man den Rest der nach dem Umkrystallisieren aus Wasser verbliebenen Aktivität auf das Vorhandensein aktiver Zimtsäuremoleküle zurückführen.

Verschiedenheit der aus dem Zinksalz gewonnenen aktiven Zimtsäure von einer gleich stark drehenden Mischung von inaktiver Zimtsäure und aktiver Phenylmilchsäure.

Um einen weiteren Beweis für das Vorhandensein molekular asymmetrischer Zimtsäuremoleküle in den aus den Zinksalzen abgeschiedenen aktiven Zimtsäuren zu erhalten, erschien es angezeigt, Mischungen von aktiver Zimtsäure und höchst drehender aktiver Phenylmilchsäure herzustellen, die auf Grund der beigemengten Phenylmilchsäure die gleiche Drehung zeigen als eine aus Zinksalz hergestellte aktive Zimtsäure.

Wenn nun die Gesamtaktivität der aus Zinksalz abgeschiedenen aktiven Zimtsäure durch nicht vollständig abgetrennte Phenylmilchsäure verursacht wäre, so müßte sie in jeder Hinsicht identisch sein mit der künstlich hergestellten Mischung des gleichen Drehungsvermögens, im anderen Falle aber sind Eigenschaftsunterschiede zwischen den beiden Präparaten zu erwarten.

Zur Durchführung dieses Vergleichs wurde, ausgehend von 30 g Rechts-Phenylbrommilchsäure durch Reduktion mit Zink und Alkohol in der beschriebenen Weise das Zinksalz der schwach aktiven Zimtsäure dargestellt. Das durch Zusatz von Wasser zu der Reduktionsflüssigkeit zur Abscheidung gebrachte Salz wurde abgesaugt und mit Wasser gewaschen, sodann nochmals mit Wasser im Mörser verrieben und wieder abgesaugt, und so lange mit Wasser ausgewaschen, bis keine Halogenreaktion, von dem gebildeten Bromzink herrührend, mehr zu beobachten war und endlich auf Ton getrocknet. Das so gewonnene Salz war frei von Halogen, enthielt sonach keine etwa noch unveränderte Phenylbrommilchsäure. Seine Gewichtsmenge betrug 9 g, was, auf Grund der früheren Analysen auf zimtsaures Zink berechnet, einem Gehalt von 7 g Zimtsäure entspricht.

Das Salz wurde sodann mit verdünnter Schwefelsäure und Äther bis zur völligen Zerlegung des Salzes geschüttelt. Die mit Glaubersalz getrocknete und filtrierte ätherische Lösung, die die in Freiheit gesetzte aktive Zimtsäure enthält, besaß ein Volumen von 67 ccm und drehte im 2-dm-Rohr:

$$\alpha = +0{,}25^{0}.$$

Unter der Voraussetzung, daß die Lösung die aus den 9 g Salz in Freiheit gesetzten 7 g Zimtsäure enthält, liegt eine 10,45 %ige Zimtsäurelösung vor von dem Drehungsvermögen:

$$[\alpha]_D = + 1,2^0.$$

Wenn nun diese Drehung allein auf aktive Phenylmilchsäure von dem Drehungsvermögen: $[\alpha]_D = + 47,40^0$ zurückzuführen wäre, so müßten in der Lösung 2,55 % dieser Phenylmilchsäure enthalten sein.

Zum Vergleich mit dieser Lösung wurden 7 g eines Gemisches von 2,55 % Phenylmilchsäure vom Drehungsvermögen $[\alpha]_D = + 47,40^0$ und 97,45 % inaktiver Zimtsäure hergestellt, d. i. auf 6,82 g Storaxzimtsäure 0,18 g d-Phenylmilchsäure, und dieses Gemisch in 67 ccm Äther in der Wärme gelöst. Beim Erkalten schieden sich jedoch zum Unterschied von allen aus den Zinksalzen erhaltenen aktiven ätherischen Zimtsäurelösungen alsbald reichliche Mengen von Zimtsäure ab. Auch bei wiederholter Auflösung konnte die Ausscheidung der Zimtsäure nicht verhindert werden. Erst als das Volumen der Lösung von 67 ccm auf 100 ccm gebracht worden war, schied sich beim Erkalten keine Zimtsäure mehr ab. Die Drehungsbestimmung dieser verdünnten Lösung im 2-dm-Rohr ergab den Winkel:

$$\alpha = + 0,16^0.$$

Rechnet man diesen Winkel um auf das Volumen 67 ccm, so ergibt sich die Drehung:

$$\alpha = + 0,24^0.$$

Da die ätherische Lösung der aktiven Zimtsäure aus dem Zinksalz vom Volumen 67 ccm den Winkel $\alpha = + 0,25^0$ aufwies, so folgt daraus, daß beide Lösungen, die der künstlichen Mischung von 2,55 % d-Phenylmilchsäure und 97,45 % inaktiver Zimtsäure und die der aktiven Zimtsäure aus dem Zinksalz die gleiche Drehung aufweisen.

Das Bemerkenswerte aber ist, daß, während die aus dem Zinksalz in Freiheit gesetzte aktive Zimtsäure auch in der Kälte ohne Abscheidung in 67 ccm Äther gelöst bleibt, sich von der entsprechenden Menge der künstlichen Mischung aus der 67 ccm betragenden ätherischen Lösung ein großer Teil in Form von Zimtsäure aus der Lösung abscheidet.

Daraus ergibt sich das überaus wichtige und entscheidende Resultat, daß die aktive Zimtsäure aus dem Zinksalz beträchtlich löslicher in Äther ist als

ein gleich stark drehendes Gemisch von inaktiver Zimtsäure und aktiver Phenylmilchsäure.

Die aus dem Zinksalz abgeschiedene aktive Zimtsäure ist also verschieden von einer gleich stark drehenden Mischung von inaktiver Zimtsäure und aktiver Phenylmilchsäure.

Diese Verschiedenheit kann nur darauf zurückgeführt werden, daß der Hauptteil der Aktivität der aktiven Zimtsäure aus dem Zinksalz durch die in Lösung befindlichen molekular asymmetrischen und daher optisch aktiven Zimtsäuremoleküle, und nur zu einem kleinen Teil durch etwa noch nicht vollständig abgetrennte aktive Phenylmilchsäure bewirkt wird.

Der Versuch, der nochmals mit dem gleichen Resultat wiederholt wurde, beweist einwandfrei, daß die Zimtsäure nicht nur in dem zuerst bei der Reduktion aktiver Phenylbrommilchsäure mit Zink und Alkohol, oder in dem gleichen, durch Erhitzen eines molekularen Gemisches von aktiver Phenylmilchsäure, inaktiver Zimtsäure und Zinkoxyd in alkoholischer Lösung gebildeten, gemischten, phenylmilchsauren-zimtsauren Zink in molekular asymmetrischer Form enthalten ist, wie sich aus der Bildung entgegengesetzt drehenden Dibromids ergibt, sondern zum Teil auch noch in aktiver Form erhalten bleibt nach der Abtrennung aus dem Molekularverband mit dem Zink und der aktiven Phenylmilchsäure.

Das Molekül der Zimtsäure ist daher, wie meine Theorie erwarten läßt, fähig, in molekular asymmetrischer Konfiguration aufzutreten, was seitdem durch Herstellung stark aktiver Zimtsäure bei der Schmelze von Weinsäure mit Zimtsäure oder Zimtsäureanhydrid zweifelsfrei bestätigt werden konnte.

Feststellung der Anzahl hemiedrischer Krystalle in einer aus Äther krystallisierten, durch Reduktion von l-Phenylbrommilchsäure gewonnenen linksdrehenden Zimtsäure.

Im Laufe der Untersuchung konnten bei den Storax- und Zimtsäurekrystallen verschiedene Arten hemiedrischer Ausbildung nachgewiesen werden.

Zuerst wurde durch Herrn Geheimrat Prof. Dr. Hintze in Breslau bei einem aus natürlicher Storaxzimtsäure durch Krystalli-

sation aus Äther gewonnenen, gut ausgebildeten, über 1 cm großen Krystall eine mit der beim Rohrzucker übereinstimmenden Hemiedrie festgestellt. Eine andere Art der asymmetrischen Ausbildung fand Richartz bei den aus d- bzw. l-Phenylmilchsäure durch Wasserabspaltung gewonnenen Zimtsäuren. Diese besitzen die sonst symmetrisch auftretenden Flächen *r* überhaupt nicht, dagegen eine Fläche *s* rechts oben und links unten, bzw. umgekehrt.

Die am häufigsten beobachtete Hemiedrie beruht auf dem einseitigen Vorhandensein der Fläche *r* und tritt bei allen Zimtsäurepräparaten die durch Regeneration der Zimtsäure aus optisch-aktiven Abkömmlingen gewonnen wird, mehr oder weniger häufig auf.

Um einen ungefähren Anhaltspunkt zu erhalten über das Verhältnis, der durch Reduktion aktiver Phenylbrommilchsäure gebildeten asymmetrischen Zimtsäure zu der daneben entstandenen symmetrischen Zimtsäure wurde eine durch Reduktion von l-Phenylbrommilchsäure erhaltene l-Zimtsäure in einem großen Becherglas aus Äther krystallisiert. Dabei schieden sich neben einigen großen α-Krystallen eine große Menge gut ausgebildeter, kleiner α-Krystalle ab.

Ein Teil davon war symmetrisch ausgebildet und besaß die Flächen *r* beiderseitig, ein großer Teil war asymmetrisch ausgebildet und besaß die Fläche *r* nur auf einer Seite. Die übrigen Krystalle waren ohne Ausbildung einer Fläche *r*. Um festzustellen, ob diese Krystalle etwa die Fläche *s* rechts oben und links unten aufwiesen, wie die aus der aktiven Phenylmilchsäure erhaltenen Zimtsäuren, waren die Krystalle zu klein.

Die Zählung der verschieden ausgebildeten α-Krystalle ergab, daß von den 335 ausgeschiedenen Krystallen nur 19 symmetrisch, mit 2 Flächen *r*, hingegen 165 asymmetrisch mit nur 1 Fläche *r* ausgebildet waren, während 151 keine Fläche *r* besaßen.

Dieses Resultat beweist, daß die Asymmetrie der durch Reduktion aktiver Phenylbromsäure erhaltenen aktiven Zimtsäure nicht nur durch ihr Drehungsvermögen, sondern auch durch die vorzugsweise asymmetrische Ausbildung ihrer Krystalle deutlich zum Ausdruck kommt.

Wie ich bereits in meiner früheren Abhandlung[1]: Theoretische Betrachtung über die Isomerie bei Äthylenderivaten, Seite 157, erwähnt habe, kann man zweifelhaft sein, ob bei den Modifikationen der Zimtsäure, bei denen die vier Substituenten

[1]) Diese Zeitschr. **35**, 134, 151, 1911; **64**, 346, 1914.

C_4H_5, H, H, COOH in einer Ebene liegen und die beiden Äthylenkohlenstoffatome in einer dazu parallelen Ebene, trotz ihrer unzweifelhaft räumlich asymmetrischen Gruppierung optische Aktivität und Enantiomorphie der Krystalle auftreten wird. Zu den Zimtsäuremodifikationen der genannten Gruppierung gehören die α-Zimtsäure und eine der drei labilen Zimtsäuren.

Nach den gemachten Beobachtungen ist anzunehmen, daß auch diese Modifikationen in asymmetrischen Krystallen auftreten können verbunden mit Drehungsvermögen. Doch erscheint es mir wahrscheinlich, daß letzteres in der β-Form, in der die aktive Zimtsäure stets zuerst erhalten wird, stärker ist.

Außer den drei genannten hemiedrischen Ausbildungsarten aktiver α-Zimtsäure hatte ich aus einem stark aktiven β-Zimtsäurepräparat, das durch Verseifung eines aus der Weinsäure-Zimtsäureschmelze erhaltenen Zinnamats gewonnen worden war, durch spontane Umlagerung in die α-Form kleine, jedoch sehr scharf ausgebildete α-Zimtsäurekrystalle erhalten. Diese lassen deutlich eine sehr in die Augen springende, hemiedrische Ausbildung erkennen, veranlaßt durch eine sonst nicht beobachtete schräg abstumpfende Fläche. Da die Krystalle zur Messung zu klein sind, habe ich sie neuerdings unter 20facher Vergrößerung photographieren lassen und füge die folgenden Abbildungen bei.

Bei den Krystallen in Fig. 1 der Tafel I treten die, den asymmetrischen Charakter bedingenden, schräg abstumpfenden Flächen an mehreren Individuen deutlich in Erscheinung. Bei 2 Krystallen der Fig. 2 der Tafel I tritt noch eine andere Abstumpfung der obersten Kante hervor.

Der Herstellung größerer Krystalle mit asymmetrischer Ausbildung soll in Zukunft noch eine größere Aufmerksamkeit zugewendet werden, als dies bei dem bisherigen Gang der Untersuchung möglich war.

Daß die Zimtsäure die beiden charakteristischen Merkmale für die molekulare Asymmetrie aufweisen kann, ist danach nicht mehr zweifelhaft.

Tafel I.



Fig. 1.

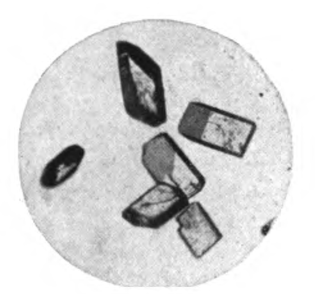
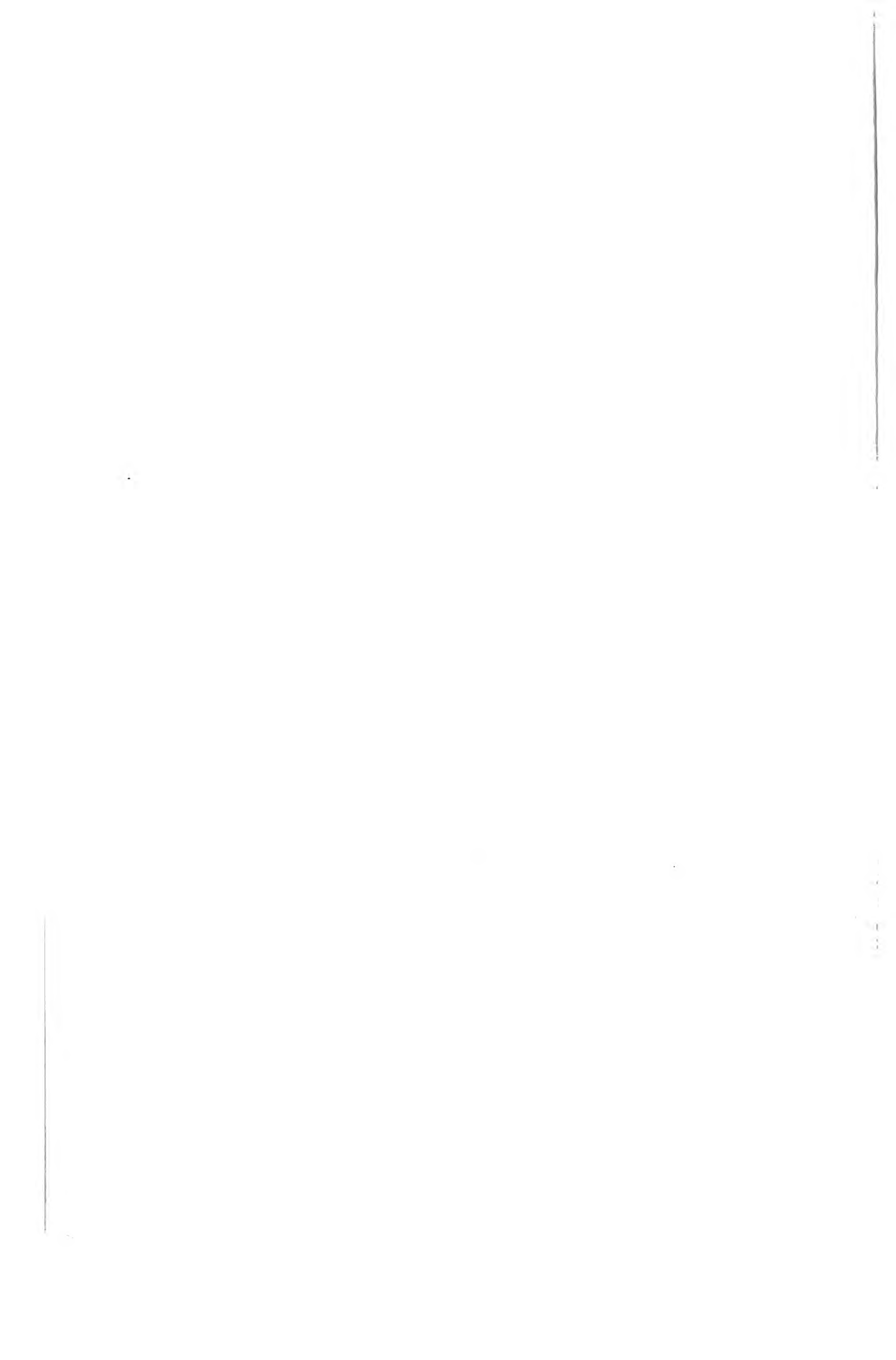


Fig. 2.

Erlenmeyer: Intra- und intermolekular wirkende Kräfte.

Verlag von Julius Springer in Berlin.



Weitere asymmetrische Synthesen von aktivem Zimtsäuredibromid durch Bromaddition an andere Kombinationen von inaktiver Zimtsäure mit aktiven Substanzen.

Die im folgenden mitzuteilenden Versuche wurden unternommen, um festzustellen, inwieweit sich die sehr interessanten, bei der Bromaddition an die gemischten Zinksalze von aktiver Phenylmilchsäure und inaktiver Zimtsäure entdeckten Erscheinungen auch bei Kombinationen von inaktiver Zimtsäure mit anderen aktiven Substanzen würden beobachten lassen.

Nach Auffindung der Aktivierung der Zimtsäure durch Verschmelzen von Weinsäure mit inaktiver Zimtsäure oder deren Anhydrid[1]) wurde die Fortführung dieser Versuche einstweilen unterbrochen. Da wegen der Einberufung des Herrn Dr. Hilgendorff zum Heeresdienst mit ihrer baldigen Wiederaufnahme nicht zu rechnen ist, so möchte ich die bisher gefundenen für die Beurteilung der Beeinflussung ungesättigter Verbindungen durch aktive Substanzen sehr bemerkenswerten Resultate nicht länger zurückhalten und werde später nach Fortsetzung der Versuche wieder darauf zurückkommen.

Wie die Versuche lehren, kommt man auch bei der Bromierung der gemischten Magnesiumsalze von inaktiver Zimtsäure und aktiver Phenylmilchsäure zu denselben Resultaten wie bei den gemischten Zinksalzen.

Ferner ließen sich aktive Zimtsäuredibromide gewinnen bei der Addition von Brom an die gemischten Zinksalze von inaktiver Zimtsäure einerseits und aktiver Weinsäure, aktiver Chlorbernsteinsäure und aktiver Mandelsäure andererseits.

Endlich gelang es auch, bei der Bromaddition an das Cinchoninsalz der inaktiven Zimtsäure aktives Dibromid zu erhalten.

---

[1]) Diese Zeitschr. 64, 296, 1914.

Bromaddition an die gemischten Magnesiumsalze der aktiven Phenylmilchsäuren und der inaktiven Zimtsäure.

Versuch 1.

Bildung von l-Dibromid bei Anwendung von d-Phenylmilchsäure.

Eine Lösung von 1,85 g d-Phenylmilchsäure und 1,65 g inaktiver Zimtsäure in Alkohol — Vol. 50 ccm — die im 1-dm-Rohr

$$\alpha = + 0{,}68^0, \text{ d. i. } [\alpha]_D = + 18{,}4^0$$

drehte, wurde mit 0,6 g MgO auf dem Wasserbad 3 Stunden gekocht. Ein Teil des Magnesiumoxyds blieb unverändert.

Nach Auffüllung auf das ursprüngliche Volumen von 50 ccm drehte die Lösung im 1-dm-Rohr nunmehr:

$$\alpha = + 2{,}25^0.$$

Wie bei der Zinksalzbildung findet also auch bei der Bildung des gemischten Magnesiumsalzes eine sehr beträchtliche Steigerung des ursprünglichen Drehungsvermögens statt, von $\alpha = + 0{,}68^0$ auf $\alpha = + 2{,}25^0$, die nur durch die asymmetrische Einstellung der mit der aktiven Phenylmilchsäure in Bindung getretenen Zimtsäure veranlaßt sein kann. Hiernach konnte man bereits auf die Bildung von l-Dibromid bei der Bromaddition schließen.

Die Lösung mit dem unveränderten Magnesiumoxyd wurde zur Trockne verdampft und der Rückstand in Chloroform verteilt, wobei der größere Teil in Lösung ging, und dazu 1,8 g Brom in wenig Chloroform gelöst zufließen gelassen. Die Entfärbung ging ziemlich rasch von statten. Nach dem Verdunsten des Chloroforms verblieb ein teils krystallinischer, teils glasiger Rückstand, der mit verdünnter Schwefelsäure und Äther bis zur vollständigen Auflösung geschüttelt wurde.

Von der ätherischen Lösung, deren Volumen 31,5 ccm betrug und die im 2-dm-Rohr $\alpha = + 2{,}68^0$ drehte, wurde der Äther abgeblasen.

Der Rückstand, der aus dem entstandenen Dibromid und unveränderter aktiver Phenylmilchsäure bestand, war 5,5 g. Zur Trennung der beiden Säuren wurde der Rückstand mit 200 ccm Wasser eine halbe Stunde auf der Schüttelmaschine geschüttelt und die wäßrige Lösung von der ungelöst gebliebenen Substanz durch Filtration getrennt. Die ungelöst gebliebene Substanz wurde noch zweimal in der gleichen Weise mit je 200 ccm Wasser geschüttelt.

Die wäßrige Lösung der ersten Ausschüttelung ergab mit Äther ausgezogen eine ätherische Lösung von dem Volumen 50 ccm, die im 2-dm-Rohr $\alpha = + 0{,}95^0$ drehte.

Der Ätherauszug des zweiten Schüttelwassers von 55 ccm drehte im 2-dm-Rohr nur mehr $\alpha = + 0{,}05^0$.

Der Ätherauszug des dritten Schüttelwassers war bereits inaktiv.

Darauf wurde die in Wasser unlösliche Substanz auf Ton getrocknet, ihr Gewicht zu 2,1 g bestimmt und ihre Eigenschaften mit denen des Zimtsäuredibromids übereinstimmend gefunden.

In Äther gelöst drehte das so erhaltene Dibromid — Vol. 15,2 ccm — im 2-dm-Rohr:

$$\alpha = -0{,}91^0, \text{ d. i. } [\alpha]_D = -3{,}3^0.$$

Es hatte sich also tatsächlich, ausgehend von d-Phenylmilchsäure, linksdrehendes Dibromid gebildet. Es mag hier erwähnt werden, daß die aktiven und das racemische Dibromid gleiche Löslichkeit und Schmelzpunkte bzw. Zersetzungspunkte besitzen.

Versuch 2.

Bildung von d-Dibromid bei Anwendung von l-Phenylmilchsäure.

In der nämlichen Weise wurde, ausgehend von 2,4 g l-Phenylmilchsäure und 2,14 g inaktiver Zimtsäure, das gemischte Magnesiumsalz hergestellt und an dieses die für die angewandte Zimtsäure berechnete Menge Brom addiert. Nach dem Ansäuern und Ausäthern des Gemisches unveränderter Phenylmilchsäure und des entstandenen Dibromids wurde der nach dem Verjagen des Äthers hinterbleibende Rückstand zur Aufnahme der in Wasser leicht löslichen Phenylmilchsäure viermal mit je 200 ccm Wasser geschüttelt. Der Ätherauszug des 2. Schüttelwassers — Vol. 25 ccm — drehte im 2-dm-Rohr $\alpha = -0{,}85^0$, der des 3. Schüttelwassers — Vol. 30 ccm — im 2-dm-Rohr $\alpha = -0{,}03^0$, der des 4. endlich war völlig inaktiv.

Das ungelöst gebliebene Dibromid war nach dem Trocknen auf Ton 2,1 g und drehte in ätherischer Lösung — Vol. 20 ccm — im 2-dm-Rohr:

$$\alpha = +0{,}24^0, \text{ d. i. } [\alpha]_D = +1{,}1^0.$$

Nach der Krystallisation aus Chloroform wurde der Schmelzpunkt 203⁰ und alle sonstigen Eigenschaften des Dibromids festgestellt.

Bromaddition an das gemischte Zinksalz von d-Weinsäure und inaktiver Zimtsäure.

Eine Lösung von 5 g Weinsäure und 4,9 g inaktiver Zimtsäure in 50 ccm Alkohol, die im 1-dm-Rohr $\alpha = +0{,}49^0$, d. i. $[\alpha]_D = +5{,}2^0$ drehte, wurde mit 2,9 g ZnO und 4 g $ZnBr_2$ auf dem Wasserbad erhitzt. Dabei trat Abscheidung eines Salzes auf, was die Feststellung einer Veränderung im Drehungsvermögen verhinderte. Nach einstündigem Erhitzen wurde der Alkohol abdestilliert und der Rückstand, der eine krümeliche, gallertartige Substanz vorstellte, mit Chloroform übergossen, womit er eine undurchsichtige, dickflüssige, scheinbar gelatinöse Flüssig-

keit bildete, und mit 5,4 g in Chloroform gelöstem Brom versetzt. Die Gelbfärbung der Lösung nahm innerhalb einer Stunde schnell ab, ohne jedoch vollständig zu verschwinden.

Der nach dem Verdunsten des Chloroforms verbleibende Rückstand wurde zur Zersetzung des Zinksalzes mit Äther und verdünnter Salzsäure geschüttelt, wobei die Weinsäure in die wäßrige Lösung, das gebildete Dibromid dagegen in die ätherische Lösung ging.

Die wäßrige Schicht — Vol. 75 ccm — drehte im 2-dm-Rohr $\alpha = + 1,23^0$, während eine vergleichsweise hergestellte Lösung von 5 g Weinsäure in Wasser — Vol. 75 ccm — im 2-dm-Rohr $\alpha = + 1,85^0$ drehte.

Die ätherische Schicht wurde deshalb noch zweimal mit Wasser geschüttelt.

Sie drehte danach — Vol. 40 ccm — im 2-dm-Rohr:

$$\alpha = + 0,30^0$$

und hinterließ nach dem Verdunsten des Äthers 9 g Dibromid. Aus Chloroform krystallisiert wurde der Schmelzpunkt 203° festgestellt.

Die ätherische Lösung dieser ersten Ausscheidung von 1,1 g drehte — Vol. 15 ccm — im 2-dm-Rohr:

$$\alpha = + 0,20^0, \text{ d. i. } [\alpha]_D = + 1,3^0.$$

Weitere Krystallisationen drehten in Äther:

$$[\alpha]_D = + 1,4^0 \text{ und } + 1,2^0.$$

Bei nochmaliger Krystallisation aller Proben aus Chloroform wurden die bekannten, schön ausgebildeten Krystalle des Dibromids erhalten.

Das Bemerkenswerte bei diesem Versuche ist, daß, während durch Bromaddition an die gemischten Zink- und Magnesiumsalze von inaktiver Zimtsäure und aktiver Phenylmilchsäure das der angewandten Phenylmilchsäure entgegengesetzt drehende Zimtsäuredibromid gebildet wird, bei der Bromaddition an das gemischte Zinksalz von d-Weinsäure und Zimtsäure das nach rechts, also nach der gleichen Richtung drehende Zimtsäuredibromid entsteht.

Die mit Phenylmilchsäure ausgeführten Versuche haben den Beweis erbracht, daß die Zimtsäure durch Induktion mit z. B. Rechtsphenylmilchsäure in ihrer rechtsdrehenden Konfiguration eingestellt wird, die sich auch als solche abscheiden läßt und die bei der Bromaddition an das gemischte Zinksalz zum Linksdibromid führt, so daß also d-Phenylmilchsäure rechtsdrehende Zimtsäure hervorbringt, die, wie das Resultat der Bromaddition zeigt, in seiner Konfiguration, dem Linksdibromid entspricht.

Danach ist zu schließen, daß die d-Weinsäure in dem gemischten Zinksalz die Zimtsäure in der linksdrehenden Konfiguration einstellt, die dann bei der Bromaddition zu dem Dibromid von der Drehungsrichtung der angewandten Weinsäure führt.

Da durch die späterhin ausgeführten Versuche bewiesen wurde, daß tatsächlich durch Schmelzen von Weinsäure mit inaktiver Zimtsäure aktive Zimtsäure von der der angewandten Weinsäure entgegengesetzten Drehungsrichtung gebildet war, so befinden sich die beiden Versuchsergebnisse in völliger Übereinstimmung.

Bromaddition an das gemischte Zinksalz von l-Chlorbernsteinsäure und inaktiver Zimtsäure.

In einer Lösung von 5,09 g l-Chlorbernsteinsäure (Kahlbaum) in 50 ccm Alkohol — Vol. 52,5 ccm — die im 1-dm-Rohr

$$\alpha = -4{,}53^0$$

drehte, wurden 4,93 g Storaxzimtsäure gelöst. Nach Zusatz von 2,8 g ZnO und 4 g $ZnBr_2$ wurde die Lösung 1 Stunde unter Rückfluß erhitzt. Das Zinkoxyd war bis auf einen geringen Rest in Lösung gegangen.

Nach Abkühlen und Filtration der Lösung wurde die höchst bemerkenswerte Beobachtung gemacht, daß zum Unterschied von den gemischten Zinksalzen von aktiver Phenylmilchsäure und Zimtsäure, die, wie gezeigt, sehr beträchtlich höher drehten als die angewandten Phenylmilchsäuren, die Lösung, die das gemischte Zinksalz von l-Chlorbernsteinsäure und Zimtsäure enthalten, durch die Bildung dieses Salzes auffallend stark in seinem Drehungsvermögen herabgeht.

Im 1-dm-Rohr drehte die Lösung

$$\alpha = -1{,}75^0,$$

während die gleich konzentrierte Lösung vor der Zinksalzbildung im 1-dm-Rohr

$$\alpha = -4{,}30^0$$

ergeben hatte.

Diese Erscheinung läßt sich nur so verstehen, daß die Zimtsäure in Verbindung mit der l-Chlorbernsteinsäure in die rechts-, also entgegengesetzt drehende Konfiguration eingestellt wird, während durch die linke Phenylmilchsäure die linksdrehende Konfiguration erzeugt wird. War diese Schlußfolgerung richtig, so mußte man erwarten, bei der Bromaddition

an das gemischte Zinksalz von l-Chlorbernsteinsäure und Zimtsäure linksdrehendes Dibromid zu erhalten.

Es muß betont werden, daß diese Versuchsergebnisse zu einer Zeit gewonnen wurden, zu der das vorhandene Beobachtungsmaterial noch zu gering war, um sie von einem einheitlichen Gesichtspunkt aus, wie es heute möglich ist, zu deuten.

Nach Ablesung der Drehungswinkel wurde die alkoholische Lösung des gemischten Zinksalzes von l-Chlorbernsteinsäure und Zimtsäure eingedampft und der zähe Rückstand in Chloroform verteilt, wobei ein Teil der Substanz ungelöst blieb. Zu der Flüssigkeit wurden nunmehr 5,3 g in wenig Chloroform gelöstes Brom gegeben. Nach 3 Stunden bestand nur noch eine schwache Gelbfärbung. Der nach dem Verdunsten verbleibende zähflüssige, milchig getrübte Rückstand wurde mit Äther und verdünnter Salzsäure geschüttelt.

Zur Trennung der auch in kaltem Wasser löslichen Chlorbernsteinsäure von dem durch die Bromaddition gebildeten Dibromid wurde der beim Verdunsten der ätherischen Lösung verbleibende Rückstand zweimal mit je 250 ccm Wasser auf der Schüttelmaschine ca. $^1/_2$ Stunde geschüttelt.

Der Ätherauszug des 1. Schüttelwassers, das die unveränderte l-Chlorbernsteinsäure enthielt, drehte nach dem Einengen auf das Volum 120 ccm im 2-dm-Rohr: $\alpha = -0,66^0$.

Der Ätherauszug des 2. Schüttelwassers — Vol. 80 ccm — war bereits inaktiv.

Das ungelöst gebliebene Dibromid, das nach dem Trocknen auf Ton 7,2 g wog, drehte in ätherischer Lösung — Vol. 30 ccm — im 2-dm-Rohr

$$\alpha = -0,42^0, \text{ d. i. } [\alpha]_D = -1,75^0.$$

Beim Umkrystalliseren aus Chloroform wurden die charakteristischen Krystalle des Dibromids vom Zersetzungspunkt 203° erhalten. Eine Probe davon in Äther gelöst, drehte $\alpha = -0,23^0$.

Es bestätigte sich also, daß durch den Einfluß der aktiven Chlorbernsteinsäure die Zimtsäure in der Konfiguration von entgegengesetzter Drehungsrichtung eingestellt wird, demzufolge der Drehwinkel des gemischten Zinksalzes weit unter dem der angewandten aktiven Chlorbernsteinsäure liegt. Die Bildung des nach der gleichen Richtung drehenden Dibromids bestätigt die Richtigkeit dieser Annahme.

Bromaddition an das gemischte Zinksalz von l-Mandelsäure und inaktiver Zimtsäure.

In einer Lösung von 2,48 g l-Mandelsäure in 30 ccm Alkohol — Vol. 32 ccm — die im 1-dm-Rohr $\alpha = -11,95^0$ drehte, wurden 2,4 g

inaktive Zimtsäure gelöst. Die Lösung, die nunmehr ein Volumen von 34 ccm besaß und im 1-dm-Rohr $\alpha = -11{,}42^0$ drehte, wurde mit 1,5 g ZnO und 3,5 g $ZnBr_2$ versetzt und im ganzen 2 Stunden unter Rückfluß auf dem Wasserbade erhitzt.

Der sich dabei abscheidende weiße, käsige Niederschlag war nicht in Lösung zu bringen.

Der Alkohol wurde darauf verjagt und der verbleibende Rückstand in Chloroform verteilt und mit 2,33 g in Chloroform gelöstem Brom versetzt.

Die Gelbfärbung war innerhalb $^1/_2$ Stunde verschwunden. Der nach dem Verdunsten des Chloroforms verbleibende Rückstand wurde, wie gewöhnlich, mit Salzsäure und Äther geschüttelt.

Die das Gemisch von l-Mandelsäure und Dibromid enthaltende ätherische Lösung hinterließ nach dem Verdunsten 6 g feuchten Rückstand. Zur Aufnahme der Mandelsäure wurde er mit 200 ccm Wasser 20 Minuten auf der Schüttelmaschine geschüttelt. Das Schüttelwasser wurde nach Filtration des Dibromids zweimal mit Äther ausgezogen.

1. Auszug — Vol. 80 ccm — drehte im 2-dm-Rohr:

$$\alpha = -0{,}35^0.$$

2. Auszug — Vol. 50 ccm — drehte im 2-dm-Rohr:

$$\alpha = -0{,}25^0.$$

Das abfiltrierte Dibromid wurde nochmals mit 200 ccm Wasser 1 Stunde lang geschüttelt. Das Schüttelwasser mit Äther ausgezogen, gab eine ätherische Lösung, die, auf 54 ccm eingeengt, im 2-dm-Rohr inaktiv war.

Das ungelöst gebliebene Dibromid ließ sich durch Schmelzpunkt und Krystallisation aus Chloroform leicht als solches erkennen.

Die ätherische Lösung von 3,1 g — Vol. 14 ccm — drehte im 2-dm-Rohr:

$$\alpha = -0{,}12^0.$$

Durch die Verkuppelung der l-Mandelsäure mit Zink und inaktiver Zimtsäure in der Wärme wird also die letztere Säure ebenso wie durch die l-Chlorbernsteinsäure in der rechtsdrehenden Konfiguration eingestellt, die bei der Bromaddition zu einem Überschuß von l-Dibromid führt.

Die mitgeteilten Versuche bestätigen also die eingangs zum Ausdruck gebrachte Erwartung, daß die Einstellung der Zimtsäuremoleküle durch den Einfluß mit ihr verbundener aktiver Moleküle mit asymmetrischen Kohlenstoffatomen zwar zu einer dem angewandten Molekül entgegengesetzt asymmetrischen Konfiguration führt, daß aber, da sowohl rechts- als linksdrehende Substanzen der nämlichen Konfigurationsreihe angehören können, die durch die asymmetrische Einstellung er-

zeugten asymmetrischen Konfigurationen der Zimtsäure bald in der gleichen, bald in der entgegengesetzten Richtung drehen als wie die zu ihrer Beeinflussung benutzten aktiven Moleküle.

Daß bei dem Versuch mit l-Chlorbernsteinsäure ein Überschuß von rechtsdrehender Zimtsäure und bei dem Versuch mit l-Phenylmilchsäure ein Überschuß von linksdrehender Zimtsäure entsteht, ergibt sich aus dem starken Rückgang der Drehung der das gemischte Zinksalz enthaltenden Lösung bei ersterem Versuch und aus der gewaltigen Zunahme der Drehung bei letzterem Versuch im Vergleich zu den Drehungen der zu den Versuchen angewandten aktiven Säuren und ferner aus der Bildung von linksdrehendem Dibromid bei ersterem und von rechtsdrehendem Dibromid bei letzterem Versuch.

Man kann daher die folgenden Reihen aufstellen:

Durch die asymmetrische Induktion entstehen aus inaktiver Zimtsäure

mit l-Phenylmilchsäure: l-Zimtsäure $\xrightarrow{+Br_2}$ d-Dibromid

„ d-Phenylmilchsäure: d-Zimtsäure $\xrightarrow{+Br_2}$ l-Dibromid

„ d-Weinsäure: l-Zimtsäure $\xrightarrow{+Br_2}$ d-Dibromid

„ l-Chlorbernsteinsäure: d-Zimtsäure $\xrightarrow{+Br_2}$ l-Dibromid

„ l-Mandelsäure: d-Zimtsäure $\xrightarrow{+Br_2}$ l-Dibromid

in der sich die Buchstaben l und d lediglich auf die Drehungsrichtung beziehen.

Daß durch den Einfluß der d-Weinsäure l-Zimtsäure und durch den Einfluß der l-Weinsäure d-Zimtsäure entsteht, wurde durch die später ausgeführten Schmelzversuche vollauf bestätigt.

Bromaddition an das in der Hitze gebildete neutrale Cinchoninsalz der Zimtsäure.

Bei den im Vorstehenden beschriebenen asymmetrischen Synthesen aktiven Dibromids standen die beeinflussenden asymmetrischen Moleküle durch Vermittlung von Zink oder Magnesium mit dem zu beeinflussenden Zimtsäuremolekül in Verbindung.

Zum Unterschied davon standen bei dem folgenden Versuch asymmetrisches Molekül und zu beeinflussendes Zimtsäuremolekül in direkter Verbindung.

Die Herstellung des zimtsauren Cinchonins wurde, ohne seine Abscheidung zu bewirken, direkt in Chloroformlösung vorgenommen durch Lösen von 8,8 g Cinchonin und 4,4 g inaktiver Zimtsäure in der zur Lösung nötigen Menge Chloroform. Nach $^1/_4$stündigem Erhitzen auf dem Wasserbade wurde die Lösung rasch abgekühlt.

Da das Cinchonin selbst 2 Atome Brom aufnimmt, mußten für die Bromaddition an Cinchonin und Zimtsäure 4 Atome Brom angewandt werden, entsprechend 9,6 g. Diese Menge Brom wurde in Chloroform gelöst unter Umschütteln und Kühlung zu der das Cinchoninsalz enthaltenden Lösung zufließen gelassen. Die zuerst dunkelbraune Färbung der Lösung ging sehr schnell in hellgelb über. Vorübergehend kam wenig einer zähen Substanz zur Abscheidung, die jedoch nach 20 Stunden wieder gelöst war.

Das Chloroform wurde zum größten Teil abgeblasen und der Rückstand zur Zersetzung des Salzes mit verdünnter Salzsäure und Äther geschüttelt. Die Zersetzung des Salzes ging, wie häufig bei Alkaloidsalzen, nur sehr langsam von statten.

Nachdem ein größerer Teil des Salzes zerlegt war, wurde die filtrierte ätherische Lösung, in der das entstandene Zimtsäuredibromid enthalten sein mußte, verdampft. Die verbleibenden 6,7 g noch gelbrot gefärbte Substanz wurden aus heißem Chloroform umkrystallisiert.

Der nach 20stündigem Stehen abgeschiedene Krystallkuchen besaß Schmelzpunkt und Eigenschaften des Dibromids. Eine Lösung von 2,6 g in Alkohol — Vol. 20 ccm — drehte im 2-dm-Rohr

$$\alpha = +1{,}25^0, \text{ d. i. } [\alpha]_D = +4{,}8^0.$$

Zum Beweis, daß tatsächlich rechtsdrehendes Dibromid vorliegt, wurden 1,5 g in die nach der gleichen Richtung drehende Phenylbrommilchsäure und diese in das entgegengesetzt drehende phenoxyacrylsaure Natrium verwandelt.

Die nach dem Erhitzen der Substanz mit Wasser, bis sich kein Bromstyrol mehr verflüchtigte, erhaltene, die Phenylbrommilchsäure enthaltende Lösung wurde ausgeäthert. Die ätherische auf 16 ccm eingeengte Lösung drehte im 2-dm-Rohr $\alpha = +0{,}11^0$. Nach dem Abblasen des Äthers wurde der Rückstand durch Zusatz von Natronlauge in das entgegengesetzt drehende phenoxyacrylsaure Natrium übergeführt Die alkalische, wäßrige Lösung drehte im 2-dm-Rohr

$$\alpha = -0{,}40^0$$

nach Berechnung einem $[\alpha]_D$ von etwa $-4{,}6^0$ entsprechend.

Daraus ergibt sich, daß das rechtsdrehende Cinchonin das Molekül der Zimtsäure vorzugsweise in der linksdrehenden Konfiguration einstellt, die dann durch Bromaddition zu dem rechtsdrehenden Dibromid führt.

Die angeführten Versuche lassen deutlich die zwischen dem induzierenden aktiven Molekül und dem in asymmetrischer Konfiguration einstellbaren ungesättigten Molekül stattfindende Wechselwirkung erkennen, die nur auf eine vom aktiven Molekül ausgehende, orientierende Kraft zurückgeführt werden kann.

Über eine asymmetrische Synthese, die von einer in relativ isomeren Konfigurationen einstellbaren gesättigten Verbindung ausgeht.

Außer den bisher besprochenen asymmetrischen Synthesen, die auf der asymmetrischen Einstellung einer ungesättigten Verbindung und darauffolgender Festlegung der Asymmetrie durch Aufnahme einfacher Moleküle unter Bildung einer stabilen, optisch-aktiven Verbindung mit asymmetrischem Kohlenstoff beruht, war von Marckwald[1]) ein völlig neuer Fall einer asymmetrischen Synthese beschrieben worden, nämlich die Bildung aktiver Methyläthylessigsäure beim Schmelzen des methyläthylmalonsauren Brucins, auf den hier nochmals zurückgekommen werden muß.

In Gemeinschaft mit F. Landsberger[2]) gelang es mir zu zeigen, daß die Bildung von optisch aktiver Isovaleriansäure, d. i. Methyläthylessigsäure aus Methyläthylmalonsäure beim Erhitzen ihres Brucinsalzes tatsächlich einen besonderen Fall einer asymmetrischen Synthese vorstellt, bei dem nicht, wie bei den bisher besprochenen Fällen, eine ungesättigte Verbindung durch die induzierende Wirkung des aktiven Alkaloids vorzugsweise in einer der beiden nach der Theorie möglichen entgegengesetzt asymmetrischen Konfigurationen eingestellt wird, um in dieser dann weiter zu reagieren, sondern bei der asymmetrischen Synthese der aktiven Isovaleriansäure führt die vom Brucin ausgehende asymmetrische Induktion einen Teil der für gewöhnlich in symmetrischer Konfiguration bestehen-

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **34**, 349, 1904.
[2]) Diese Zeitschr. 64, 366, 1914.

den Moleküle der Methyläthylmalonsäure durch Drehung um die *c*—*c*-Achse vorzugsweise in die eine der beiden, nach meiner Theorie von der relativen Isomerie vorauszusehende d- bzw. l-asymmetrische Konfiguration über, in der die beiden Carboxyle dem Brucin gegenüber eine verschiedene Reaktionsgeschwindigkeit und Säurestärke besitzen müssen und die zum Unterschied von der symmetrischen Konfiguration bei der Abspaltung von Kohlendioxyd zu aktiver Isovaleriansäure führen muß, da die beiden Carboxylgruppen nicht mehr diesseits und jenseits einer Symmetrieebene des Moleküls liegen und darum nicht mehr gleich oft abgespalten werden, sondern vorzugsweise nur die eine, was dann naturgemäß die Bildung aktiver Substanz zur Folge haben muß, wie aus den folgenden Figuren ersichtlich wird.

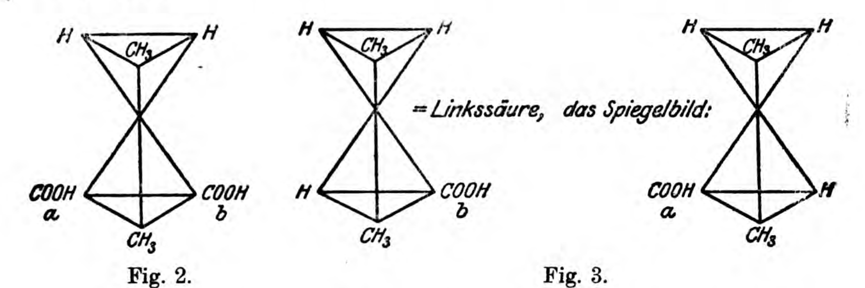


Fig. 2. Fig. 3.

Die symmetrische Konfiguration der Methyläthylmalonsäure, Fig. 2, muß der symmetrischen Lage der beiden Carboxylgruppen wegen ebenso oft die Carboxylgruppe *a* als die Carboxylgruppe *b* abspalten.

Die Abspaltung von Carboxyl *a* führt zu Fig. 3, 1 = Linkssäure, das Spiegelbild, Fig. 3, 2: aber muß entstehen: durch Abspaltung des Carboxyls *b*. Wie das Experiment lehrt, werden die Carboxyle *a* und *b* gleich oft abgespalten, da das Reaktionsprodukt, die Isovaleriansäure, sonst nicht inaktiv sein könnte.

Wenn aber durch Drehung um die *c*—*c*-Achse eine teilweise Verwandlung der symmetrischen Methyläthylmalonsäure in eine der beiden relativ isomeren asymmetrischen Konfigurationen stattgefunden hat, liegen die beiden Carboxyle *a* und *b* nicht mehr symmetrisch und verhalten sich dementsprechend sowohl dem Brucin gegenüber als bei der Kohlensäureabspaltung verschieden, so daß sich verschieden große

Mengen der l- bzw. d-Isovaleriansäure bilden und der ent standene Überschuß der einen aktiven Säure bei der Polarisation bemerkbar wird.

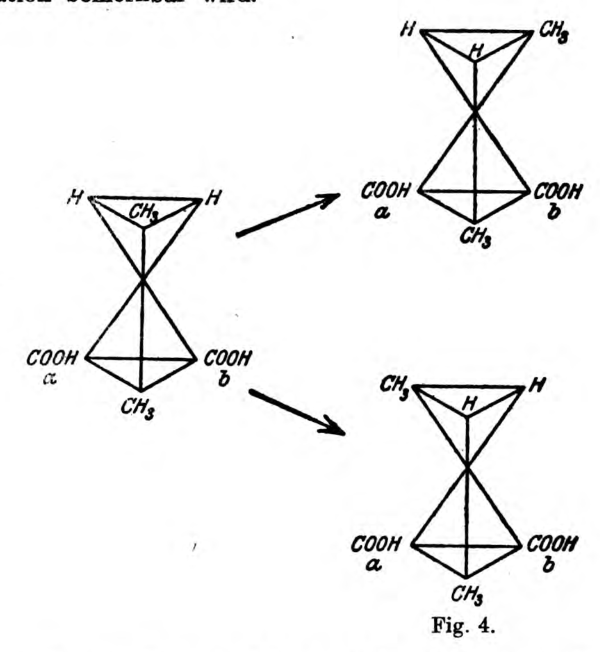


Fig. 4.

Weitere Versuche lehrten, daß nicht nur das linksdrehende Brucin in der Schmelze mit Methyläthylmalonsäure unter Kohlensäureabspaltung zu aktiver Isovaleriansäure führt und zwar zu der linksdrehenden, sondern, was noch viel merkwürdiger ist, daß auch die d-Weinsäure in der Schmelze mit Methyläthylmalonsäure durch asymmetrische Induktion aktive Isovaleriansäure und zwar gleichfalls linksdrehende erzeugt, während mit l-Weinsäure rechtsdrehende Isovaleriansäure entsteht.

Diese asymmetrische Synthese der d- bzw. l-Isovaleriansäure durch Kohlensäureabspaltung beim Zusammenschmelzen mit l- bzw. d-Weinsäure beansprucht in mehrerer Hinsicht das größte Interesse.

Zum Unterschied von der bisher besprochenen asymmetrischen Synthesen liefert sie den Beweis, daß von optischaktiven Molekülen mit asymmetrischem Kohlenstoff nicht nur auf ungesättigte Verbindungen und nicht nur wenn Bindung von Molekül zu Molekül vorliegt, ein asymmetrisch orientierender

Einfluß ausgeübt wird, sondern auch auf gesättigte Verbindungen, die durch relative Isomerisation in asymmetrischer Atomlagerung möglich sind, und zwar beim Schmelzen, ohne daß eine Bindung von Molekül zu Molekül vorhanden ist.

Es muß angenommen werden, daß hier die nämliche intermolekular wirkende, von einem asymmetrischen Molekül mit asymmetrischem Kohlenstoff ausgehende Kraft wirksam ist, die das veränderliche Molekül in eine dem ersteren entsprechende asymmetrische Lagerung einzustellen bestrebt ist, wie bei der Racemisierung, jedoch mit dem Unterschied, daß bei der Racemisierung eine völlige Ergänzung des asymmetrischen Moleküls durch seinen spiegelbildlichen Partner stattfindet, was bei der asymmetrischen Induktion der labilen Methyläthylmalonsäure durch die Weinsäure nicht möglich ist.

Wie schon hervorgehoben wurde, läßt sich aus der Drehungsrichtung nicht ohne weiteres auf die d- bzw. l-Asymmetrie schließen. So sieht man bei der asymmetrischen Synthese der aktiven Isovaleriansäure durch den Einfluß des linksdrehenden Brucins die gleichfalls linksdrehende Isovaleriansäure, durch den Einfluß der linksdrehenden Weinsäure hingegen rechtsdrehende Isovaleriansäure und der rechtsdrehenden Weinsäure inksdrehende Isovaleriansäure sich bilden.

Denselben Verschiedenheiten in der Drehungsrichtung der durch asymmetrische Induktion hervorgebrachten asymmetrischen Moleküle sind wir schon bei der asymmetrischen Synthese optisch-aktiven Zimtsäuredibromids bei der Induktion der Zimtsäure durch aktive Säuren begegnet. Mit Hilfe von d-Phenylmilchsäure wurde d-Zimtsäure und l-Dibromid und mit Hilfe von d-Weinsäure dagegen l-Zimtsäure und d-Dibromid erhalten.

Aus den besprochenen Versuchen ergibt sich, daß in allen Fällen, nicht nur bei den mit ungesättigten Molekülen ausgeführten asymmetrischen Synthesen, sondern auch bei dieser von der gesättigten Methyläthylmalonsäure ausgehenden asymmetrischen Synthese der Bildung des asymmetrischen Endproduktes mit asymmetrischem Kohlenstoff die Einstellung der durch die asymmetrische Synthese zu verändernden Substanz in einer asymmetrischen Konfiguration vorausgehen muß. Gerade in dieser durch ein, sei es direkt verbundenes oder auch nur nebenher in Schmelze vorhandenes

asymmetrisches Molekül mit asymmetrischem Kohlenstoff bewirkten asymmetrischen Einstellung eines in seiner Konfiguration veränderlichen Moleküls hat man das wesentliche Moment für das Zustandekommen asymmetrischer Synthesen zu suchen.

Voraussichtlich werden sich, ausgehend von anderen disubstituierten Malonsäuren mit verschiedenen Substituenten noch weitere asymmetrische Synthesen ausführen lassen.

Die bisher berührten asymmetrischen Synthesen kamen bei den ungesättigten Verbindungen durch Addition, bei der Methyläthylmalonsäure durch Abspaltung einer Carboxylgruppe zustande, wahrscheinlich werden sich auch noch durch Substitution asymmetrische Synthesen bewerkstelligen lassen.

Der Umstand, daß bereits in der Schmelze der asymmetrisch orientierende Einfluß von aktiven Molekülen mit asymmetrischem Kohlenstoff sich geltend macht, läßt es berechtigt erscheinen, die bereits oben angeführten Versuchsresultate, die Wallerant beim Verschmelzen von Weinsäure und Malonimid erhalten hat, auf die Wirkung der nämlichen Kraft zurückzuführen und veranlaßte mich, den Einfluß, den die aktiven Weinsäuren in der Schmelze mit Zimtsäure und Zimtsäureanhydrid auf die Konfiguration der Zimtsäure ausüben, zu studieren.

Bisher sind bereits drei Abhandlungen über diesen Gegenstand erschienen[1]). Eine weitere Abhandlung über die bei dem Schmelzen von Weinsäure mit Zimtsäure, deren Anhydrid und Chlorid gebildeten aktiven Zimtsäuren und die daneben entstehenden Cinnamate wird bald folgen.

---

[1]) Diese Zeitschr. **64**, 296, 1914; **74**, 137, 1916; **77**, 55, 1916.

Einheitliche Erklärung der bei der Wechselwirkung asymmetrischer Substanzen mit asymmetrischem Kohlenstoff und der Zimtsäure bzw. Allozimtsäure gemachten Beobachtungen auf Grund meiner Theorie der Isomerie bei Äthylenderivaten.

Von

Emil Erlenmeyer.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Biologischen Reichsanstalt Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 18. Juli 1919.)

Mit 1 Figur im Text.

Der Gedanke, daß von asymmetrischen Molekülen mit asymmetrischem Kohlenstoff auf ungesättigte Verbindungen eine umlagernde Wirkung ausgeübt würde, drängte sich mir zuerst bei dem Studium der Salzbildung von Brucin mit der Allozimtsäure[1]) auf.

Diese Versuche waren von der, durch die von Liebermann, sowohl bei Allozimtsäure als seiner Isozimtsäure beobachtete Hemiedrie, angeregten Vermutung ausgehend unternommen worden, die Allozimtsäure könnte die racemische Verbindung einer d- und l-Isozimtsäure (L) vorstellen, die man als Zwischenlage bei dem Übergang der labilen Isozimtsäure (E) in die mit dieser geometrisch isomeren stabilen Zimtsäure erwarten konnte.

Durch den zuerst geführten Nachweis, daß bei der Brucinsalzbildung der Allozimtsäure ungefähr zu gleichen Teilen zwei gleich zusammengesetzte, jedoch im Schmelzpunkt, in ihrer Löslichkeit und in ihrem Drehungsvermögen wesentlich ver-

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **38**, 2562, 3496, 1905.

schiedene Salze gebildet werden, von denen das schwerer lösliche, in großen meßbaren Krystallen sich abscheidende Salz bei der Zerlegung eine Zimtsäure liefert, die nach Schmelzpunkt und Messung der Krystallwinkel identisch ist mit der zuerst von Liebermann beschriebenen Isozimtsäure, jedoch als besonderes Merkmal eine durchweg rechtshemiedrische Krystallausbildung aufweist, schien die Richtigkeit obiger Vermutung über das Verhältnis der labilen Zimtsäuren zueinander bestätigt zu werden. Aus dem leichter löslichen Brucinsalz sollte danach durch Zerlegung gleichfalls Liebermannsche Isozimtsäure, jedoch mit linkshemiedrischer Ausbildung erwartet werden.

Die Versuche zeigten zwar, daß auch aus dem leichter löslichen Brucinsalz in der Tat Isozimtsäure (L) entsteht, jedoch ohne irgendwelche Andeutung einer hemiedrischen Ausbildung.

Die Erwartung des Zerfalls der Allozimtsäure bei der Brucinsalzbildung in zwei spiegelbildliche Komponenten von den Eigenschaften der Isozimtsäure (L) hatte sich also nicht ganz erfüllt, da die Isozimtsäurekrystalle aus dem zweiten Salz holoedrisch waren.

Bereits damals kam mir der Gedanke, den ich auch meinen Mitarbeitern gegenüber zum Ausdruck brachte, daß man die Bildung der noch fehlenden Liebermannschen Isozimtsäure in der linkshemiedrischen Ausbildung erwarten dürfe, wenn man in der Lage wäre, mit dem noch nicht bekannten Spiegelbild des natürlichen Brucins, d. i. dem d-Brucin, die Salzbildung mit der Allozimtsäure vorzunehmen, und faßte damit zum erstenmal die Möglichkeit einer asymmetrischen Beeinflussung der labilen Zimtsäure durch das asymmetrische Brucinmolekül ins Auge.

Diese Vorstellung einer von asymmetrischen Verbindungen mit asymmetrischem Kohlenstoff ausgehenden Kraft, die bestrebt ist, durch asymmetrische Induktion gleichzeitig vorhandene, sei es gleichzusammengesetzte Moleküle, wie bei der Racemisierung, oder auch andere in ihrer Konfiguration leicht veränderliche Moleküle, wie besonders die in relativ isomeren, asymmetrischen Formen möglichen ungesättigten als auch gesättigten Verbindungen in einer, die Asymmetrie des Kraft

aussendenden Moleküls, am besten ergänzenden Konfiguration einzustellen, hat sich, wie gezeigt, nicht nur bei der Erklärung der Racemisierung, sondern auch bei der Erklärung der asymmetrischen Synthese durchaus bewährt.

Nur bei der Racemisierung kann natürlich die vollständige Ergänzung des asymmetrischen Moleküls durch die Bildung seines Spiegelbildes und damit die gänzliche Neutralisierung der von dem asymmetrischen Molekül ausgehenden Kraft erwartet werden.

In allen anderen Fällen, bei denen asymmetrische Moleküle mit asymmetrischem Kohlenstoff auf relativ isomerisierbare Moleküle umgruppierend einwirken, werden diese in die Konfiguration umgewandelt werden, in der sie den denkbar größten Gegensatz zu dem auf sie wirkenden asymmetrischen Molekül zeigen und in der der größte Teil der wirksamen Kraft ausgeglichen wird. Ein vollständiger Ausgleich ist in diesen Fällen nicht mehr möglich, wegen der Strukturverschiedenheit von nduzierender und induzierter Substanz, und dann auch deshalb, weil die induzierte Substanz in ihrer neu eingestellten Konfiguration leicht veränderlich ist und in ihre ursprüngliche racemische Form zurückstrebt.

Wegen der Strukturverschiedenheit der aufeinander wirkenden Moleküle ist es auch unmöglich, vor Anstellung eines Versuchs eine Vermutung auszusprechen, in was für einer der beiden spiegelbildlichen Konfigurationen die veränderliche Substanz vorzugsweise eingestellt werden wird. Daß sie aber in dieser den denkbar größten Gegensatz zu dem asymmetrischen Molekül aufweist, kann nach den Versuchsergebnissen nicht zweifelhaft sein.

Mit den aktiven Phenylmilchsäuren müssen daher die nach der gleichen Richtung drehenden, mit den aktiven Weinsäuren hingegen die entgegengesetzt drehenden Zimtsäuren den größten Gegensatz bilden.

Der Umstand, daß Verbindungen der gleichen Konfigurationsreihe, wie ich[1]) zusammen mit Barkow[2]) und Rabbethge[3]) bei einigen Abkömmlingen der Zimtsäure gefunden habe, die

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **39**, 788, 1906.

[2]) Stacochem. Studien, Inaug.-Diss. Straßburg **1906**.

[3]) Stacochem. Studien in d. Zimts.-Reihe, Inaug.-Diss. Basel **1904**.

entgegengesetzte Drehungsrichtung besitzen können, beweist, daß die Gegensätzlichkeit nicht durch entgegengesetzte Drehung gegeben ist, sondern von Fall zu Fall durch den Versuch festgestellt werden muß.

Bei der früher mitgeteilten Reihe von Verbindungen der gleichen Konfigurationsreihe:

$$
\begin{array}{lll}
C_6H_5\text{—CHOH—CHCl—COOH} & [\alpha]_D = + & 26{,}1^0 \\
C_6H_5\text{—CHOH—CHBr—COOH} & \text{„} \quad = + & 22{,}6^0 \\
C_6H_5\text{—CHOHCHJ—COOH} & \text{„} \quad = + & 17^0 \\
C_6H_5\text{—CHOH—CHH—COOH} & \text{„} \quad = + & 19^0 \\
C_6H_5\text{—CH—CH—COONa} \ (\text{—CH—CH— über O verbunden}) & \text{„} \quad = - & 157{,}89^0 \\
C_6H_5\text{—CHCl—CHOH—COOH} & \text{„} \quad = - & 71{,}7^0
\end{array}
$$

war durch die genetische Verknüpfung beim Übergang der einen Verbindung in die andere unter Bedingungen, unter denen ein Konfigurationswechsel ausgeschlossen ist, die Zugehörigkeit dieser Verbindungen von entgegengesetztem Drehungsvermögen zu der gleichen Konfigurationsreihe bewiesen worden. Alle Glieder dieser Reihe besitzen daher die Gruppe: $C_6H_5\text{—}\overset{|}{\text{CH}}\text{—}\overset{|}{\text{CH}}\text{—COOH}$ in identischer Anordnung. Der bei diesen Verbindungen aufgefundene Gegensatz in der Drehungsrichtung muß in der Verschiedenheit der mit dieser identischen Gruppe verbundenen Atomen bzw. Gruppen, die ja die genau gleichliegenden Affinitäten besetzen, gesucht werden.

Während man mit Recht bei den angeführten Verbindungen von der Zugehörigkeit zu der gleichen Konfigurationsreihe sprechen kann, wird dies unmöglich bei Verbindungen, die in ihrer Struktur sehr verschieden sind, wie z. B. Alkaloide und Zimtsäure. Dennoch aber müssen auch zwischen diesen Verbindungen Gegensätze in ihrer Asymmetrie möglich sein, die jedoch jeweils durch das Experiment ermittelt werden müssen.

Die experimentelle Ermittlung des asymmetrischen Gegensatzes geschieht nach den von uns in Anwendung gebrachten Methoden.

Auf Grund der Bildung der nämlichen linksdrehenden Isovaleriansäure beim Schmelzen von Methyläthylmalonsäure mit dem linksdrehenden Brucin einerseits und der Rechts-

weinsäure andererseits[1]) muß z. B. geschlossen werden, daß die mit dem l-Brucin in asymmetrischen Gegensatz stehende asymmetrische Konfiguration der Methyläthylmalonsäure auch mit der d-Weinsäure in asymmetrischem Gegensatz steht. Da nun mit Hilfe von l-Weinsäure die d-Isovaleriansäure gebildet wird, so folgt daraus, daß mit Hilfe von rechtsdrehendem Brucin gleichfalls die rechtsdrehende Isovaleriansäure entstehen würde.

Die interessantesten Fälle von asymmetrischer Gegensätzlichkeit haben die in der voranstehenden Abhandlung mitgeteilten Untersuchungen mit der Zimtsäure ergeben.

Alle bei den Zimtsäuren gesammelten Beobachtungen lassen sich unschwer durch die schon früher mitgeteilten „Theoretischen Betrachtungen über die Isomerie bei Äthylenderivaten"[2]) verständlich machen.

Die 6 verschiedenen, durch genaue krystallographische Messung festgelegten Zimtsäuren:

1. Die Storax-α-Zimtsäure,
2. die Storax-β-Zimtsäure,
3. die trikline Zimtsäure,

ferner

4. die Allozimtsäure,
5. die Isozimtsäure von Liebermann,
6. die Isozimtsäure von Erlenmeyer sen.

müssen durch die folgenden räumlichen, relativ isomeren Formeln (Fig. 1) mit unbesetzten Affinitäten versinnbildlicht werden:

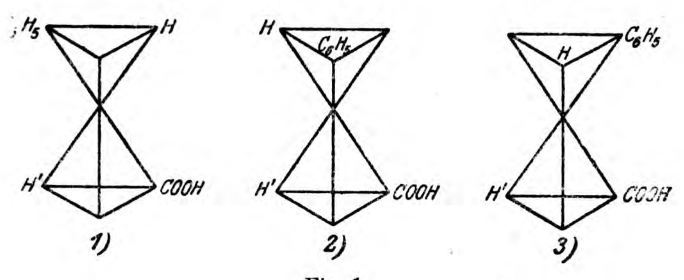


Fig. 1.

[1]) Diese Zeitschrift **64**, 366, 1914.
[2]) Diese Zeitschrift **35**, 149, 1911.

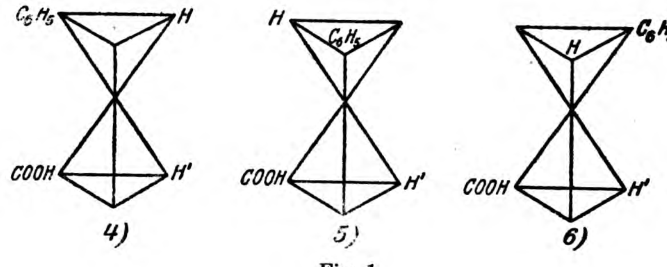


Fig. 1.

Alle 6 Formeln sind asymmetrisch. In den Formeln 1 und 4 liegen die 4 am Äthylenkern gebundenen Substituenten, wie bei den bisher gültigen geometrischen Formeln in einer Ebene. Die räumlich asymmetrische Anordnung wird aber dadurch bedingt, daß die beiden den Äthylenkern bildenden Kohlenstoffatome in einer zu der ersteren parallelen Ebene liegen. In den übrigen Formeln dagegen liegen die 4 Substituenten auf den Ecken asymmetrischer Tetraeder, wie die Modelle auf S. 157 l. c. erkennen lassen.

Zu allen 6 Formeln muß daher ihrer räumlichen Asymmetrie entsprechend ein Spiegelbild existieren und die durch die 6 Formeln ausgedrückten Zimtsäuremodifikationen werden danach sowohl in einer Racemform als je in einer d- und einer l-Form möglich sein.

Die Form 2 geht aus Form 1, die Form 5 aus Form 4 und die Form 6 aus Form 5 durch Drehung um die C—C-Achse hervor.

Der gewöhnlichen Storax-α-Zimtsäure wurde früher auf Grund der Tatsachen diejenige geometrische Formel beigelegt, in der die Gruppen C_6H_5 und COOH diesseits und jenseits der Äthylengruppe liegen. Mit dieser geometrischen Formel stimmt in der Lage der beiden genannten Gruppen die räumliche Formel 1 völlig überein, die danach als das Symbol der stabilsten Zimtsäuremodifikation: der **Storax-α-Zimtsäure**, zu gelten hat.

Von den 3 Säuren der Isoreihe ist die Allozimtsäure am stabilsten, die Isozimtsäure (E) dagegen am labilsten und energiereichsten. Wenn der Grad der Stabilität vorzugsweise von der gegenseitigen Stellung der beiden schwersten Gruppen C_6H_5 und COOH abhängig ist, so muß Formel 6 der Allo-

zimtsäure, Formel 5 der Isozimtsäure Liebermann und Formel 4 der Isozimtsäure von Erlenmeyer sen. entsprechen.

Die Verwandlungen, die bei den Säuren der Zimtsäurereihe einerseits und bei den Säuren der Isozimtsäurereihe andererseits beobachtet wurden, zeigen eine weitgehende Übereinstimmung miteinander.

Ebenso wie die Storax-α-Zimtsäure durch Energiezufuhr in Form von Wärme leicht in die Storax-β-Zimtsäure übergeht, die der Formel 2 entspricht, wird auch auf dem gleichen Wege die Allozimtsäure durch Schmelzen oder auch durch Erhitzen in Lösung zunächst in die labilere Isozimtsäure (L) und weiter auch in die labilste und energiereichste Isozimtsäure (E) übergeführt.

Ferner ist es nicht nur für die Storaxzimtsäure, sondern auch für die Allozimtsäure charakteristisch, daß sie auch durch den Einfluß asymmetrischer Moleküle mit asymmetrischem Kohlenstoff in die labileren Modifikationen, bei denen alle 4 Gruppen auf den Ecken eines asymmetrischen Tetraeders liegen, umgewandelt werden, d. i. in die Storax-β-Zimtsäure einerseits und in die Isozimtsäure Liebermanns andererseits.

So wurde beobachtet, daß die bei der Reduktion der aktiven Phenylbrommilchsäure gebildete aktive Zimtsäure stets in der β-Modifikation auftritt. Die gleiche Modifikation entsteht bei der Schmelze von Weinsäure mit Zimtsäure oder deren Anhydrid, die sich jedoch von der inaktiven β-Zimtsäure dadurch unterscheidet, daß sie viel weniger leicht in die α-Zimtsäure zurückverwandelt wird.

Ebenso verschwindet bei der Salzbildung der Allozimtsäure mit dem asymmetrischen Brucin die Allozimtsäure; die wieder in Freiheit gesetzte Säure bestand bei den meisten Versuchen aus der der β-Zimtsäure entsprechenden Isozimtsäure (L). In wenigen Fällen ließ sich die durch weitere Drehung um die C—C-Achse aus dieser hervorgehende labilste Zimtsäure, die Isozimtsäure (E) abscheiden, neben sehr geringen Mengen der triklinen Zimtsäure, bei deren Bildung nach dem Modell Platzwechsel von einem Wasserstoffatom an die freie Affinität stattfinden muß.

Endlich aber macht sich der Einfluß der asymmetrischen

Verbindung sowohl bei der Storaxzimtsäure als auch bei der Allozimtsäure dadurch geltend, daß die aus dem Verband mit der asymmetrischen Verbindung wieder abgeschiedenen Zimtsäuren in unverkennbarer Weise die für die molekulare Asymmetrie ausschlaggebenden Merkmale aufweisen.

So zeigt die durch Reduktion von aktiver Phenylbrommilchsäure gewonnene Zimtsäure neben Aktivität vorwiegend hemiedrische Krystallausbildung. Durch die Entstehung entgegengesetzt drehenden Dibromids ließ sich ihre Asymmetrie einwandfrei beweisen. Höher drehende Zimtsäurepräparate, deren hemiedrisch ausgebildeten Krystalle, sowie deren genau stimmenden Kohlenstoffbestimmungen das Vorliegen molekular asymmetrischer Zimtsäuremoleküle außer Frage stellen, konnten durch Verschmelzen von Weinsäure mit Zimtsäure bzw. deren Anhydrid sowie bei der vorsichtigen Verseifung der gleichzeitig gebildeten Cinnamatgemische erhalten werden.

Es ergibt sich daraus mit Sicherheit, daß auch die rechtshemiedrische Ausbildung der Isozimtsäure (L) aus dem mit l-Brucin erhaltenen Salz aus Allozimtsäure auf die asymmetrische Beeinflussung durch das l-Brucin zurückgeführt werden muß.

Damit findet meine schon früher geäußerte Ansicht ihre Bestätigung, daß bei Anwendung des leider nicht zur Verfügung stehenden Rechtsbrucins die Isozimtsäure (L) in linkshemiedrischer Ausbildung erhalten werden müßte.

Optische Aktivität konnte bei dem einzigen bisher mit der rechtshemiedrischen Isozimtsäure (L) ausgeführten Versuch nicht beobachtet werden.

Wie bei der Beeinflussung der Zimtsäure durch asymmetrische Verbindungen stets nur ein Teil in der einseitigen, molekular asymmetrischen Konfiguration eingestellt wird, während ein größerer Teil in der Racemform erhalten bleibt, so sieht man auch bei der Brucinsalzbildung der Allozimtsäure nur einen Teil in das Brucinsalz der hemiedrischen Isozimtsäure (L) übergehen, der andere Teil scheidet sich in Form eines amorphen Brucinsalzes ab, aus dem zwar gleichfalls Isozimtsäure (L) in Freiheit gesetzt wird, jedoch in holoedrischen Krystallen, so daß in diesem Salz die racemische Isozimtsäure (L) enthalten sein muß.

Entsprechend dieser Auffassung dreht letzteres Salz, in

dem sich die Asymmetrie der spiegelbildlichen Konfigurationen der Isozimtsäure ausgleichen, um die Hälfte weniger als das krystallisierte Salz.

Von der allergrößten Bedeutung aber ist es, daß die bei der Wechselwirkung von asymmetrischen Molekülen mit asymmetrischem Kohlenstoff und den relativ isomerisierbaren gesättigten und ungesättigten Säuren, wie der Methyläthylmalonsäure und den Zimtsäuren beobachteten Erscheinungen zu der Annahme einer von den asymmetrischen Molekülen ausgehenden Kraft zwingen, die die in ihrer Lagerung veränderlichen Moleküle in die dem asymmetrischen Molekül am meisten entgegengesetzte asymmetrische Konfiguration einzustellen bestrebt ist.

Wie bei allen Naturkräften läßt sich auch bei dieser vom asymmetrischen Molekül ausgehenden Kraft ihre reale Existenz nicht sinnlich wahrnehmen, sondern muß aus ihren Wirkungen gefolgert werden, die in der Asymmetrie der Krystalle und dem Drehungsvermögen der durch die Kraft beeinflußten ungesättigten Moleküle oder der daraus durch Addition von Brom gebildeten asymmetrischen Verbindungen mit asymmetrischem Kohlenstoff zum sinnlich wahrnehmbaren Ausdruck kommen.

Die relativ isomerisierbaren ungesättigten Moleküle zeigen durch diese Fähigkeit auf die von asymmetrischen Molekülen ausgehende Kraft, durch Umgruppierung zu reagieren, bereits eine gewisse Annäherung an die lebendige Substanz.

Noll schreibt in seiner Pflanzenphysiologie[1]) darüber: „Die lebendige Substanz wird von Reizwirkungen beherrscht, ihre eigenartige Reizbarkeit ermöglicht das, was wir Leben nennen,“ und weiter unten: „Bei lebendigen Organismen haben wir es mit einer reizbaren oder lebendigen Modifikation der plasmatischen Substanz zu tun und die Aufgabe der Physiologie besteht hauptsächlich darin, die Eigenschaften und Äußerungen dieser lebendigen Modifikation plasmatischer Substanzen zu erforschen.“

Wenn man in der Verschiebbarkeit der Teile gegeneinander bei Aufrechterhaltung des Zusammenhalts, jedoch unter nach-

---

[1]) Lehrbuch der Botanik von Straßburger, Noll, Schenck, Schimper 1894, S. 135.

weisbarer Veränderung in den Eigenschaften die primitivste Äußerung lebendiger Substanz erblickt, die dem Molekül die Starrheit nimmt und ihm einen gewissen Grad von Gelenkigkeit und Anpassungsfähigkeit erteilt, so kann man sagen, daß die relativ isomerisierbaren ungesättigten und gesättigten Moleküle diese primitivste Äußerung der lebendigen Substanz bereits besitzen.

Die bisherigen chemischen Untersuchungen haben sich ausschließlich mit der Morphologie und Systematik der chemischen Moleküle beschäftigt.

Die Morphologie der chemischen Moleküle vermittelt die auf Grund von Analyse, Abbau und Synthese zutage geförderten Kenntnisse über die Konstitution der chemischen Moleküle, die dann in der Systematik zur Einordnung der untersuchten Moleküle an der Hand des Gesetzes von der Atomverkettung benutzt werden.

Wenn Noll in der Erforschung der Eigenschaften und Äußerungen der lebendigen Modifikation plasmatischer Substanzen die Hauptaufgabe der Physiologie erblickt, so wird sich dabei für die Chemie eine neue, sehr viel schwierigere Aufgabe ergeben, die man gewissermaßen als die Erforschung der Physiologie der komplizierteren organischen Moleküle ansprechen kann.

Die voranstehend mitgeteilten Untersuchungen mit den relativ isomerisierbaren gesättigten und ungesättigten Verbindungen lassen sich alsdann als einen ersten, wenn auch noch bescheidenen Beitrag zu dieser Physiologie organischer Moleküle betrachten.

Waldensche Umkehrung.

Von

Emil Erlenmeyer.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Biologischen Reichsanstalt zu Berlin-Dahlem.)

(Eingegangen am 18. Juli 1919.)

Mit 2 Figuren im Text.

Die von optisch aktiven Molekülen mit asymmetrischen Kohlenstoffatomen ausgehenden richtenden Kräfte, die, wie gezeigt, nicht nur zur Erklärung der Racemisierung, sondern auch zur Erklärung der Aktivierung besonders von ungesättigten Verbindungen, und da diese den asymmetrischen Synthesen vorausgeht, auch zur Erklärung dieser selbst angenommen werden müssen, scheinen mir auch imstande zu sein, in das bisherige Dunkel der Waldenschen Umkehrung Licht zu bringen.

Die Waldensche Umkehrung und der Vorgang der Racemisierung sind offenbar zwei eng miteinander verwandte Erscheinungen.

Bei der Racemisierung wird z. B. ein Rechtsmolekül in sein Spiegelbild umgewandelt oder umgekehrt. Die Umwandlung hört auf, wenn gleiche Mengen von d- und l-Molekülen gebildet sind.

Bei der Waldenschen Umkehrung wird ein Rechtsmolekül durch Austausch eines Atoms oder einer Gruppe, die an ein asymmetrisches Kohlenstoffatom gebunden ist, durch ein anderes Atom oder eine andere Gruppe in ein Molekül umgewandelt, das in seiner Konfiguration nicht mehr mit dem

Ausgangsmolekül, sondern mit dessen Spiegelbild in eine Konfigurationsreihe gehört.

Wie bei der Racemisierung findet also auch bei der Waldenschen Umkehrung ein Übergang von einer Konfiguration in eine spiegelbildliche Konfiguration statt, nur mit dem Unterschied, daß bei der Racemisierung die entstehende spiegelbildliche Konfiguration mit der ursprünglichen gleichzusammengesetzt und somit isomer ist, während bei der Waldenschen Umkehrung die ursprüngliche und die neugebildete spiegelbildliche Konfiguration Verbindungen von verschiedener Zusammensetzung entsprechen, deren Verschiedenheit eben durch den Austausch eines Substituenten am asymmetrischen Kohlenstoffatom durch einen anderen bedingt wird.

Denkt man sich bei der neu entstandenen spiegelbildlichen Konfiguration den Austausch des Substituenten wieder rückgängig gemacht, so würde auch bei der Waldenschen Umkehrung aus einem Rechtsmolekül sein Spiegelbild, das Linksmolekül entstanden sein, also genau wie bei der Racemisierung.

Der wesentliche Unterschied zwischen Racemisierung und Waldenscher Umkehrung liegt darin, daß die Racemisierung halt macht, wenn die Hälfte der asymmetrischen Moleküle die eine, die andere Hälfte aber die spiegelbildliche Konfiguration angenommen hat, während bei der Waldenschen Umkehrung die Gesamtmenge der einen Konfiguration durch Substitution am asymmetrischen Kohlenstoffatom in die neue Verbindung anderer Zusammensetzung von der spiegelbildlichen Konfiguration übergeht.

In den Fällen, bei denen ohne Waldensche Umkehrung die Substitution am asymmetrischen Kohlenstoffatom erfolgt, bildet sich durch diese, wie die folgenden Formeln (1 u. 2) erkennen lassen, eine neue Substanz der gleichen Konfigurationsreihe:

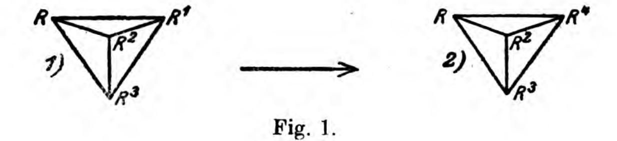


Fig. 1.

Findet dagegen bei der Substitution auch die Waldensche Umkehrung statt, so gehört die neu entstehende Substanz der spiegelbildlichen Konfigurationsreihe an, nämlich:

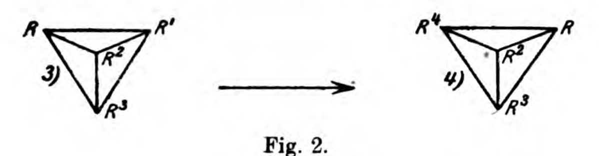


Fig. 2.

Die Zugehörigkeit zur gleichen Konfigurationsreihe ist gegeben durch die identische räumliche Lage der beiden Molekülen gemeinschaftlichen Substituenten RR^2R^3, die Zugehörigkeit zur spiegelbildlichen Konfigurationsreihe dagegen durch die spiegelbildliche, räumliche Lage der nämlichen Substituenten.

Das Produkt der normal verlaufenen Substitution, 2, und das Produkt der Substitution mit Waldenscher Umkehrung, 4, sind, wie leicht zu sehen ist, vollständige Spiegelbilder.

Dieser auf den ersten Blick gänzlich unverständliche Übergang aus der einen in die spiegelbildliche Konfigurationsreihe bei der Waldenschen Umkehrung kann, rein theoretisch betrachtet, entweder so vor sich gehend gedacht werden, daß vor der Substitution, wie bei der Racemisierung, die Umwandlung von d- in l-Moleküle stattfindet und dann bei den l-Molekülen die Substitution in normaler Weise erfolgt. Alsdann müßte ein trennbares Gemisch von ursprünglicher Rechtssubstanz und der durch Substitution entstandenen Linkssubstanz sich bilden. Zu dem gleichen Resultat müßte die Substitution bei der Racemverbindung führen, was jedoch ausgeschlossen ist, da die spiegelbildlichen Teile der Racemverbindung ihrer gleichen Reaktionsgeschwindigkeit wegen, gleichoft in Reaktion treten müssen und damit zu einem aktiven Substitutionsprodukt nicht führen können.

Der Übergang aus einer in die spiegelbildliche Konfigurationsreihe kann somit nicht vor der Substitution stattfinden.

Die zweite Möglichkeit, daß zuerst die Substitution in normaler Weise zu dem Produkt der gleichen Konfigurationsreihe erfolgt und danach ein Konfigurationswechsel der neugebildeten Substanz eintritt, kann auch nicht zutreffen, da bei

dem Konfigurationswechsel, seinem Fortschreiten von Molekül zu Molekül entsprechend, die Racemverbindung des Substitutionsproduktes sich bilden und damit Inaktivität eintreten müßte.

Es bleibt daher nur noch die Annahme möglich, daß der Konfigurationswechsel bei der Substitution eintritt.

Man hat alsdann anzunehmen, daß bei Eintritt der Substitutionsreaktion die Moleküle der beispielsweise rechtsdrehenden Verbindung hintereinander, genau wie bei der Racemisierung, der Vorstellung von Werner[1]) entsprechend in die Zwischenlage, bei der die vier Gruppen in einer Ebene liegen, übergeführt wird, in der dann die Substitution erfolgt. Aus dieser Zwischenlage kann dann das Molekül der neugebildeten Substanz ebenso leicht in die d- als in die l-Konfiguration übergehen.

Dadurch aber, daß während des ganzen Vorgangs der Substitution die noch unangegriffenen asymmetrischen Moleküle ihren entgegengesetzt asymmetrisch orientierenden Einfluß auf das in der Zwischenlage gebildete Substitutionsprodukt ausüben, wird dieses genötigt, in die der Ausgangsverbindung entgegengesetzte asymmetrische Konfiguration überzugehen, bis schließlich die Gesamtmenge in das Substitutionsprodukt von dieser Konfiguration umgewandelt ist.

Dieser Anschauung entsprechend läßt sich die Waldensche Umkehrung besonders gut verständlich machen bei dem Übergang von einer optisch aktiven Amidosäure durch Vertretung der Amidogruppe bei der Diazotierung in die entsprechende Hydroxyl- bzw. Halogenverbindung.

Die Diazotierung der in den Amidosäuren enthaltenen

```
       R
       |  /NH2
Gruppe C<          kann entweder so erfolgen, daß durch sie
       |  \H
       COOH
```

nur die Amidogruppe angegriffen wird. In diesen Fällen bleibt das asymmetrische Kohlenstoffatom bei der Reaktion erhalten und wird voraussichtlich auch keine Veränderung der Konfiguration bei der Zersetzung der Diazoverbindung zu erwarten sein.

Die Diazotierung kann aber, wie der Diazoessigester zeigt,

---

[1]) Werner, Lehrbuch der Stereochemie 48.

auch so erfolgen, daß bei ihr nicht nur die Amidogruppe, sondern auch ein daneben befindliches Wasserstoffatom angegriffen wird. Alsdann entsteht aus der aktiven Verbindung

$$\begin{array}{l} R \\ | \\ C\!\!<\!\!\begin{array}{l} NH_2 \\ H \end{array} \\ | \\ COOH \end{array}$$

mit asymmetrischem Kohlenstoffatom die Verbindung

$$\begin{array}{l} R \\ | \\ C\!\!<\!\!\begin{array}{l} N \\ \| \\ N \end{array} \\ | \\ COOH \end{array},$$

die ein asymmetrisches Kohlenstoffatom nicht mehr enthält.

Findet die Diazotierung in dieser Weise statt, so bildet sich unter vorübergehendem Verlust des asymmetrischen Kohlenstoffs ein Zwischenprodukt, das bei der darauffolgenden Stickstoffabgabe und Aufnahme der Elemente des Wassers oder des Halogenwasserstoffs ebenso leicht in die d- als in die l-Konfiguration der sich bildenden Hydroxyl- bzw. Halogenverbindung übergehen kann.

Dadurch aber, daß während der Reaktion die noch unveränderte aktive Amidoverbindung ihren entgegengesetzt asymmetrisch orientierenden Einfluß auf die Richtung, in der sich die Zersetzung der Diazoverbindung vollzieht, ausübt, wird das der angewandten aktiven Amidoverbindung entgegengesetzt asymmetrische Substitutionsprodukt gebildet werden müssen.

Da z. B. das d-Alanin durch salpetrige Säure in die natürliche d-Milchsäure[1]) übergeht, so hat man umgekehrt zu schließen, daß in diesem Falle die Diazotierung ohne vorübergehenden Verlust des asymmetrischen Kohlenstoffs, d. h. in normaler Weise erfolgt. Wenn aber das gleiche d-Alanin durch Nitrosylbromid in l-Brompropionsäure[2]), die mit Ammoniak l-Alanin liefert, übergeht, so muß man bei diesem Übergang die Zwischenbildung der symmetrischen Diazoverbindung

$$\begin{array}{l} CH_3 \\ | \\ C\!\!<\!\!\begin{array}{l} N \\ \| \\ N \end{array} \\ | \\ COOH \end{array}$$

[1]) E. Fischer und Skita, Zeitschr. f. physiol. Chem. **33**, 190, 1901.
[2]) E. Fischer und O. Warburg, Ann. d. Chem. **340**, 171, 1905.

annehmen, die dann in dem Maße, wie sie sich bildet, durch den asymmetrischen Einfluß des d-Alanins unter Stickstoffentbindung die Elemente des Bromwasserstoffs unter Bildung der entgegengesetzt drehenden l-Brompropionsäure aufnimmt.

Wie man sieht, läßt sich also auch die auf den ersten Blick so rätselhafte Waldensche Umkehrung ungezwungen auf die nicht nur bei der Racemisierung, sondern auch bei der asymmetrischen Synthese wirksame, von aktiven Verbindungen ausgehende asymmetrische Induktion zurückführen.

Andere Erscheinungen, die gleichfalls nur durch die von asymmetrischen Molekülen ausgehenden Kräfte bewirkt werden können, sollen in der nächsten Abhandlung besprochen werden.

Über die von asymmetrischen Molekülen ausgehende Kraft und ihre Bedeutung für die Biochemie.

Von

Emil Erlenmeyer.

(Aus dem chemischen Laboratorium der Biologischen Versuchsanstalt zu Dahlem.)

(Eingegangen am 18. Juli 1919.)

Die Tatsache, daß beim Erwärmen von aktiver Phenylmilchsäure, Zinkoxyd und Zimtsäure in alkoholischer Lösung unter starkem Ansteigen des Drehungsvermögens ein gemischtes Zinksalz entsteht, das bei der Addition von zwei Atomen Brom und nach der Trennung der Phenylmilchsäure ein der angewandten Phenylmilchsäure entgegengesetzt drehendes Zimtsäuredibromid liefert, zwingt zu der Annahme, daß von molekular asymmetrischen, optisch aktiven Molekülen eine Kraft ausgeht, die auf gewisse, in ihrer Konfiguration veränderliche Moleküle wie die Zimtsäure, einen orientierenden Einfluß ausübt und durch relative Isomerisation in eine räumlich asymmetrische Lage überführt, in der dann die Addition von Brom zu einem entgegengesetzt drehenden Dibromid führt.

Nach allen bisher ausgeführten und in dieser Zeitschrift mitgeteilten Versuchen handelt es sich hier offenbar um eine besondere Art der Induktion, die in mancher Hinsicht mit der magnetischen Induktion zu vergleichen ist.

Auch bei dieser von asymmetrischen Molekülen ausgehenden Induktion läßt sich voraussehen, daß sie durch Kraftlinien, zur Wirkung gelangt.

Das einzelne asymmetrische Molekül ist dann einem offenen Magneten an die Seite zu stellen, während bei der

Racemverbindung, ähnlich wie bei einem durch Anker geschlossenen Magnet oder wie bei zwei gleichen mit den N- und S-Polen aneinandergelegten Magneten, die von spiegelbildlichen Hälften ausgehenden, entgegensetzten Kräfte neutralisiert erscheinen.

Dieser Ausgleich der von spiegelbildlichen Molekülen ausgehenden Kräfte bei Bildung der Racemverbindung durch Vereinigung gleicher Mengen der Spiegelbilder findet meist unter Freiwerden nicht unbeträchtlicher Wärmemengen statt. Nur selten läßt sich gar keine Wärmetönung feststellen.

Außer durch die Vereinigung spiegelbildlicher Moleküle bilden sich die Racemkörper auch beim Erhitzen eines der beiden aktiven Komponenten in einem Lösungsmittel.

Auch in diesen Fällen ist die Umwandlung der Hälfte der asymmetrischen Moleküle in ihre Spiegelbilder unter Bildung des Racemats auf die Wirkung der asymmetrischen Induktion zurückzuführen und läßt sich mit der Erzeugung eines magnetischen Südpols durch Anlegen eines magnetischen Nordpols an einen weichen Eisenstab vergleichen.

So wie die magnetischen Kraftlinien nicht nur auf Eisen, d. i. ein aus den gleichen Molekülen aufgebauter Stoff, ihren Einfluß ausüben, sondern auch auf Stoffe, die sich aus andersartigen Molekülen zusammensetzen, einwirken, z. B. auf alle paramagnetischen Stoffe, so nimmt es auch nicht wunder, daß die von einem asymmetrischen Molekül ausgehenden Kraftlinien ihren induzierenden Einfluß auszuüben vermögen, auf organische Substanzen anderer Zusammensetzung, die durch ihre Konstitution befähigt sind, sich in einer asymmetrischen Konfiguration einzustellen.

Wie die Untersuchungen gelehrt haben, sind zur Einstellung in asymmetrischer Konfiguration befähigt ungesättigte Verbindungen; außer diesen aber auch, wie aus meinen früheren theoretischen Darlegungen[1]) hervorgeht, bestimmte gesättigte Verbindungen.

Von ungesättigten Verbindungen wurde bisher eingehend die Zimtsäure, von gesättigten Verbindungen die Methyläthylmalonsäure untersucht.

---

[1]) Diese Zeitschr. **35**, 134, 1911; **64**, 346, 1914.

Gesetz von der gleichen aber entgegengesetzten Wirkung der von spiegelbildlichen Molekülen ausgehenden Kräfte.

Die mit Hilfe von asymmetrischen Molekülen an der Zimtsäure ausgeführten Induktionsversuche und die dabei gewonnenen Resultate setzen voraus, daß diese Erscheinungen durch ein Gesetz beherrscht werden, das man als das Gesetz von der gleichen aber entgegengesetzten Wirkung der von spiegelbildlichen Molekülen ausgehenden Kräfte bezeichnen kann.

In allgemeiner Form ausgedrückt besagt dieses Gesetz folgendes:

1. Wenn von zwei spiegelbildlichen Molekülen $+A$, $-A$ das Molekül $+A$ eine ungesättigte oder gesättigte Verbindung vorzugsweise in ihrer nach rechts bzw. nach links drehenden Konfiguration einstellt, so muß unter den gleichen Bedingungen das asymmetrische Molekül $-A$ die gleiche ungesättigte oder gesättigte Verbindung vorzugsweise in ihrer nach links bzw. nach rechts drehenden Konfiguration einstellen.

2. Wenn sich die in ihrer rechtsdrehenden Konfiguration eingestellte Verbindung durch Addition einfacher Moleküle, wie z. B. Br_2 in eine stabile rechts- bzw. linksdrehende Verbindung mit asymmetrischem Kohlenstoff überführen läßt, so muß der gleiche Prozeß die in ihre linksdrehenden Konfiguration eingestellte Verbindung in eine stabile links- bzw. rechtsdrehende Verbindung mit asymmetrischem Kohlenstoff überführen.

3. Wenn sich bei einem bestimmten, dem Satz 2 entsprechenden Beispiel gezeigt hat, daß eine ungesättigte Verbindung durch Induktion mit einer bestimmten asymmetrischen Substanz in ihrer rechtsdrehenden Konfiguration eingestellt wird, die sich durch Addition eines einfachen Moleküls in eine stabile rechts- bzw. linksdrehende Verbindung mit asymmetrischem Kohlenstoff überführen läßt, so muß in allen Fällen, bei denen durch Induktion der gleichen ungesättigten Substanz mit anderen asymmetrischen Molekülen und darauffolgender Addition des nämlichen einfachen Moleküls dieselbe rechts- bzw. linksdrehende Verbindung mit asymmetrischem Kohlenstoff entsteht, die ungesättigte Verbindung vor der Ad-

dition in ihrer rechtsdrehenden Konfiguration eingestellt gewesen sein.

Der gleiche aber entgegengesetzte Schluß gilt für die Fälle, bei denen die Induktion durch die spiegelbildlichen Moleküle bewirkt wurde.

Auch für die Fälle, bei denen eine gesättigte, in ihrer rechts- bzw. linksdrehenden Konfiguration eingestellten Verbindung, z. B. durch Abspaltung von Kohlensäure sich in eine stabile, aktive Verbindung mit asymmetrischem Kohlenstoff überführen läßt, gelten die gleichen Gesetze.

Wie alle bisher untersuchten Beispiele erkennen lassen, drehen die durch Induktion mit Hilfe eines nach rechts drehenden Moleküls in asymmetrischer Konfiguration eingestellten ungesättigten oder gesättigten Moleküle bald nach rechts, bald nach links, umgekehrt die mit Hilfe eines nach links drehenden Moleküls eingestellten, woraus sich ergibt, daß die von spiegelbildlichen Molekülen ausgehende positiv-negative Kraft in keinerlei Zusammenhang steht mit der Richtung des positiven-negativen Drehungsvermögens, der durch sie in asymmetrischer, bald rechts- bald linksdrehender Konfiguration eingestellten ungesättigten oder gesättigten Verbindungen.

Nur die durch Induktion bei dem Vorgang der Racemisierung gebildeten Spiegelbilder müssen entgegengesetztes Drehungsvermögen besitzen. Bei allen anderen Induktionsvorgängen dreht die durch Induktion gebildete Substanz bald nach der gleichen, bald nach der entgegengesetzten Richtung, wie die induzierende Substanz. Bei spiegelbildlichen Molekülen geht also der asymmetrische Gegensatz dieser Moleküle Hand in Hand mit einer entgegengesetzen Drehungsrichtung, während für den asymmetrischen Gegensatz bei verschieden zusammengesetzten Molekülen allein die durch die Induktion bewirkte asymmetrische Einstellung ausschlaggebend ist, unabhängig von der Drehungsrichtung der durch Induktion veränderten Substanz.

Experimentelle Grundlage für das Gesetz.

Experimentell wurde durch die bisher ausgeführten Versuche festgestellt:

1. daß bei der Induktion der Zimtsäure in der Schmelze

mit d-Weinsäure l-Zimtsäure, mit l-Weinsäure dagegen d-Zimtsäure entsteht,

2. daß dagegen bei der Induktion der gleichen Zimtsäure mit d-Phenylmilchsäure d-Zimtsäure entsteht,

3. daß bei der Addition von Brom an das bei der Induktion erhaltene, gemischte Zinksalz der Zimtsäure mit der d-Phenylmilchsäure l-Zimtsäuredibromid gebildet wird, während bei der Addition von Brom an das gemischte Zinksalz von Zimtsäure und l-Phenylmilchsäure d-Zimtsäuredibromid entsteht, woraus Satz 3 entsprechend folgt, daß die in dem gemischten Zinksalz von l-Phenylmilchsäure und Zimtsäure enthaltene Zimtsäure l-Zimtsäure sein muß.

4. Da weiter bei der Bromaddition an das gemischte Zinksalz von d-Weinsäure und Zimtsäure d-Zimtsäuredibromid entsteht, so folgt daraus, daß in diesem Salz die Zimtsäure durch die induzierende Wirkung der d-Weinsäure in ihrer linksdrehenden Konfiguration eingestellt ist, was mit dem Ergebnis der Induktion der Zimtsäure in der Schmelze mit d-Weinsäure völlig übereinstimmt.

5. Da die l-Brombernsteinsäure in dem gemischten Zinksalz mit Zimtsäure und darauffolgender Bromaddition l-Dibromid liefert, so muß die Zimtsäure in diesem Salz in ihrer Rechtskonfiguration eingestellt sein.

6. Da die d-Mandelsäure in dem gemischten Zinksalz mit Zimtsäure bei der Bromaddition d-Dibromid gibt, so muß die Zimtsäure in diesem Salz in ihrer Linkskonfiguration eingestellt sein.

7. Da endlich das zimtsaure d-Cinchonin bei der Bromaddition d-Dibromid liefert, so muß sich die Zimtsäure in Verbindung mit d-Cinchonin in ihrer Linkskonfiguration einstellen.

Nach dem aus diesen Versuchen abgeleiteten Gesetz von der gleichen, aber entgegengesetzten Wirkung der von spiegelbildlichen Molekülen ausgehenden Kräfte muß geschlossen werden, daß bei den gleichen Versuchen mit

d-Brombernsteinsäure → l-Zimtsäure → d-Dibromid
l-Mandelsäure → d-Zimtsäure → l-Dibromid
l-Cinchonin → d-Zimtsäure → l-Dibromid

entstehen müßte.

Nach dem gleichen Gesetz müßte sich bei der Bildung des Salzes der Allozimtsäure mit dem spiegelbildlichen d-Brucin linkshemiedrische Isozimtsäure (L) bilden.

Da bei der Schmelze der Methyläthylmalonsäure mit d-Weinsäure l-Isovaleriansäure, mit l-Weinsäure dagegen d-Isovaleriansäure entsteht, so ist nach dem gleichen Gesetz zu folgern, daß bei der Schmelze der nämlichen Säure mit dem unbekannten d-Brucin die d-Isovaleriansäure entstehen müßte, da das natürliche l-Brucin l-Isovaleriansäure liefert.

Wenn auch die Zahl der bisher untersuchten Fälle noch nicht sehr groß ist, so liefern sie doch bereits den einwandfreien Beweis, daß die von asymmetrischen Molekülen ausgehende Kraft imstande ist, nach meiner Theorie in asymmetrischer Konfiguration einstellbare, ungesättigte und gesättigte Moleküle asymmetrisch zu orientieren.

Es wäre aber verfehlt, bei allen anderen denkbaren Kombinationen ohne Experiment gleichgute Resultate voraussetzen zu wollen.

Im Gegenteil darf man bei den einzelnen Kombinationen mit sehr verschiedenen Resultaten rechnen, wie schon die sehr verschiedenen Ergebnisse der asymmetrischen Synthese lehren, bei denen bekanntlich die Mengen der gleichfalls auf Induktion zurückzuführenden optisch aktiven Reaktionsprodukte sehr verschieden groß sind.

Gegenüber der nämlichen induzierbaren Substanz sind nach den mitgeteilten Versuchen verschiedene asymmetrische Moleküle als Induktoren anwendbar, die man, je nachdem sie die induzierbare Substanz vorzugsweise in ihrer rechts- oder in ihrer linksdrehenden Konfiguration einstellen, in Reihen der gleichen bzw. entgegengesetzten Wirksamkeit einordnen kann.

Der Zimtsäure gegenüber gehören daher in die Reihe der gleichen Wirksamkeit die folgenden optisch aktiven, asymmetrischen Moleküle:

d-Phenylmilchsäure
l-Weinsäure
l-Brombernsteinsäure
l-Mandelsäure
l-Cinchonin,

während die Spiegelbilder der angeführten Verbindungen die Reihe der entgegengesetzten Wirksamkeit bilden.

Mit ersterer Reihe steht die d-Zimtsäure, mit der letzteren die l-Zimtsäure in asymmetrischem Gegensatz.

Die Wirkung der positiven-negativen Kraft auf andere ungesättigte oder andere Moleküle steht nicht im Zusammenhang mit dem positiven-negativen Drehungsvermögen der durch Spiegelbilder asymmetrisch orientierten Moleküle.

Die von asymmetrischen Molekülen ausgehende Kraft in ihrer Wirkungsweise als asymmetrische Wahlverwandtschaft.

Als weitere unabweisbare Folgerung der Annahme einer von spiegelbildlichen Molekülen ausgehenden positiv-negativen Kraft ergibt sich die Forderung, daß sich spiegelbildliche Moleküle einer anderen asymmetrischen Substanz gegenüber verschieden verhalten müssen.

Lassen sich für die Richtigkeit dieser Folgerung unzweideutige experimentelle Belege auffinden, so muß die tatsächliche Wirksamkeit einer solchen Kraft als bewiesen gelten.

Bei den vorher besprochenen Erscheinungen der Racemisierung, der asymmetrischen Synthese und der Waldenschen Umkehrung zeigte die von asymmetrischen Molekülen ausgehende Kraft eine induzierende Wirksamkeit, indem sie andere Moleküle in bestimmter Weise asymmetrisch orientierte.

Diese asymmetrische Orientierung findet unter Konfigurationswechsel der beeinflußten Substanz statt, der ohne eine Veränderung der relativen Lage der das Molekül bildenden Teile undenkbar ist.

Bei dem Magneten springt aber außer der induzierenden Wirkung auch die anziehende und abstoßende Wirkung ins Auge. Der Nordpol eines Magnets zieht den Südpol eines anderen Magneten an und stößt dessen Nordpol ab.

Ist nun die von asymmetrischen Molekülen ausgehende Kraft der magnetischen Kraft in ihrer Wirkungsweise tatsächlich an die Seite zu stellen, so müssen auch spiegelbildliche Moleküle von einem andern asymmetrischen Molekül in verschieden hohem Grade angezogen bzw. abgestoßen werden, so daß z. B. letzteres sich lieber mit der +- als mit der —-Komponente oder umgekehrt verbindet.

Es muß daher bei der Reaktion eine Auswahl zugunsten

der einen Komponente stattfinden, weshalb ich für die von asymmetrischen Molekülen ausgehende Kraft in dieser auslesenden Wirksamkeit die Bezeichnung asymmetrische Wahlverwandtschaft einführe.

Auch für die auslesende Wirkungsweise, die asymmetrische Wahlverwandtschaft, gilt das Gesetz von der gleichen aber entgegengesetzten Wirkung der von spiegelbildlichen Molekülen ausgehenden Kräfte, das wie folgt zu formulieren ist: Wenn ein asymmetrisches Molekül $+B$ von den Komponenten einer Racemverbindung ($+A$, $-A$) z. B. $+A$ bevorzugt, so muß das spiegelbildliche Molekül $-B$ die Komponente $-A$ bevorzugen, desgleichen, wenn $+B$ $-A$ bevorzugt, so muß $-B$ $+A$ bevorzugen.

Verschiedenes Verhalten eines asymmetrischen Moleküls gegenüber spiegelbildlichen Molekülen.

Um festzustellen, wie sich ein asymmetrisches Molekül gegenüber spiegelbildlichen Molekülen verhält, ist es nötig, die asymmetrische Verbindung mit den Antipoden unter Bedingungen zusammenzubringen, unter denen es möglich ist, etwaige Verschiedenheiten im Reaktionsvermögen nachzuweisen.

Voraussetzung ist dabei, daß das asymmetrische Molekül mit den Antipoden in chemische Reaktion zu treten vermag.

Die bei der Reaktion etwa zu erwartende Verschiedenheit kann sich dann nur in verschiedener Reaktionsgeschwindigkeit äußern. Diese muß die Bildung verschiedener Mengen der Reaktionsprodukte des asymmetrischen Moleküls mit den beiden Antipoden zur Folge haben.

Läßt sich eine solche Verschiedenheit experimentell feststellen, so muß sie auf den verschiedenen Grad der Anziehung bzw. Abstoßung zwischen dem asymmetrischen Molekül und den Antipoden zurückgeführt werden.

Bei der Reaktion asymmetrischer Moleküle hat man alsdann außer der chemischen Affinität der in Reaktion tretenden Gruppen, die von der Asymmetrie der Moleküle abhängige asymmetrische Wahlverwandtschaft in Betracht zu ziehen, die die chemische Affinität unterstützt oder verstärkt, oder aber ihr entgegenarbeitet und sie aufzuheben strebt.

Es erscheint dann leicht verständlich, wenn bei einzelnen

Kombinationen asymmetrischer Verbindungen die asymmetrische Wahlverwandtschaft einen sehr wesentlichen Einfluß auf die chemische Affinität ausübt und imstande ist, den Eintritt einer Reaktion mit einem der Antipoden fast ganz zu verhindern, während bei anderen Kombinationen für den Ablauf der Reaktion allein die chemische Affinität in Betracht zu kommen scheint und daher alle denkbaren Reaktionsprodukte gebildet werden.

Der Unterschied in den einzelnen Fällen kann allein von der verschiedenen Intensität der von den asymmetrischen Molekülen aufeinander ausgeübten Kraft abhängen.

Bedingungen, unter denen sich eine Verschiedenheit im Reaktionsvermögen eines asymmetrischen Moleküls den Antipoden gegenüber muß beobachten lassen.

Eine etwa in Erscheinung tretende Verschiedenheit im Reaktionsvermögen zwischen einem asymmetrischen Molekül und den zwei Komponenten einer Racemverbindung wird sich

a) bei der Salzbildung asymmetrischer Säuren und asymmetrischer Basen nur dann erwarten lassen, wenn die Mengenverhältnisse des zu prüfenden asymmetrischen Moleküls zu den Antipoden so gewählt sind, daß sich aus dem zu erwartenden Umsetzungsprodukt der sichere Schluß ziehen läßt, daß das asymmetrische Molekül einen der Antipoden bevorzugt hat.

Diese Voraussetzung ist erfüllt:

1. Wenn man z. B. auf ein Racemmolekül ($+A$, $-A$) das asymmetrische Molekül $+B$ einwirken läßt.

2. Wenn man mit einer Racemsäure eine Racembase zu gleichen Molekülen in Reaktion treten läßt,

Ausführung und Belege zu 1.

Die von Pasteur zur Trennung von Racemkörpern in ihre optisch aktiven Komponenten benutzte Versuchsanordnung geht von der Salzbildung der beiden die Racemverbindung bildenden Komponenten mit der zu deren vollständiger Sättigung nötigen Menge einer Base (bzw. Säure), die mit $+B$ bezeichnet sei, aus.

Die hierbei stattfindende chemische Reaktion ist durch die Gleichung auszudrücken:

$$\begin{pmatrix}+A\\-A\end{pmatrix}+2(+B)=\begin{pmatrix}+A\\+B\end{pmatrix}+\begin{pmatrix}-A\\+B\end{pmatrix},$$

die besagt, daß bei Anwendung dieses Mengenverhältnisses nebeneinander die beiden Salze $\begin{pmatrix}+A\\+B\end{pmatrix}$ und $\begin{pmatrix}-A\\+B\end{pmatrix}$ entstehen, die, da sie weder spiegelbildlich noch kongruent sind, verschiedene Eigenschaften besitzen, auf Grund deren sie getrennt werden können.

Die Zerlegung der getrennten Salze führt dann zu den Komponenten $+A$ und $-A$.

Ein Aufschluß darüber, ob $+B$ eine größere Affinität zu $+A$ oder zu $-A$ besitzt, läßt sich bei dieser Versuchsanordnung naturgemäß nicht erwarten.

Um hierüber etwas zu erfahren, muß vielmehr eine andere Versuchsanordnung getroffen werden, bei der auf die Racemverbindung $\begin{pmatrix}+A\\-B\end{pmatrix}$ nur ein Molekül der asymmetrischen Verbindung $(+B)$ zur Anwendung kommt.

Bei Anwendung dieses Mengenverhältnisses von Racemat auf die asymmetrische Verbindung ist zu erwarten, daß, wenn die asymmetrische Verbindung einen der Antipoden, z. B. $+A$, auf Grund der asymmetrischen Wahlverwandtschaft bevorzugt, die folgende Reaktion eintritt:

$$\begin{pmatrix}+A\\-A\end{pmatrix}+(+B)=\begin{pmatrix}+A\\+B\end{pmatrix}+(-A),$$

d. h. es wird sich ein Gemisch des Salzes der einen Komponente $+A$ mit $+B$: $\begin{pmatrix}+A\\+B\end{pmatrix}$ und der unverbundenen Komponente $-A$ bilden, die sich durch ihre verschiedene Löslichkeit abtrennen und somit nachweisen lassen muß.

Läßt sich bei einem bestimmten Beispiel dieser Reaktionsverlauf einwandfrei feststellen, so konnte damit der Beweis als erbracht gelten, daß die asymmetrische Verbindung $+B$ auf Grund der von ihr ausgehenden Kraft eine stärkere Affinität zu $+A$ als zu $-A$ besitzt, wenn nicht der Einwurf möglich wäre, daß sich von den beiden möglichen Salzen: $\begin{pmatrix}+A\\+B\end{pmatrix}$ und

$\begin{pmatrix}-A\\+B\end{pmatrix}$ z. B. das Salz $\begin{pmatrix}+A\\+B\end{pmatrix}$ deshalb gebildet haben könnte, weil es schwerer löslich als das Salz $\begin{pmatrix}-A\\+B\end{pmatrix}$ ist.

Um diesen Einwurf widerlegen zu können, muß man daher die Löslichkeit der beiden Salze $\begin{pmatrix}+A\\+B\end{pmatrix}$ und $\begin{pmatrix}-A\\+B\end{pmatrix}$, die sich durch die Pasteursche Versuchsanordnung gewinnen lassen, kennen lernen, was sich durch einen Versuch nach dieser Anordnung leicht erreichen läßt.

Ergibt der im Verhältnis von 1 Racemat auf 2 Moleküle $(+B)$ ausgeführte Versuch, daß z. B. das Salz $\begin{pmatrix}+A\\+B\end{pmatrix}$ schwerer löslich ist als das Salz $\begin{pmatrix}-A\\+B\end{pmatrix}$ und scheidet sich bei dem Versuch im Verhältnis von 1 Racemat auf 1 $(+B)$ das gleiche Salz ab, so ist der Einwurf, daß die Abscheidung dieses Salzes bei letzterer Versuchsanordnung auf seine Schwerlöslichkeit zurückzuführen sei, nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen.

Scheidet sich dagegen bei letzterer Versuchsanordnung das als leichter löslich erkannte $\begin{pmatrix}-A\\+B\end{pmatrix}$ Salz ab, während $+A$ in Lösung bleibt, so kann nunmehr geschlossen werden, daß die asymmetrische Verbindung $+B$, wenn ihr die Wahl gelassen wird, sich lieber mit $-A$ als mit $+A$ verbindet, ein Ergebnis, das die Verschiedenheit der Verwandtschaft von $+B$ zu $+A$ und von $+B$ zu $-A$ beweist, die allein durch die Verschiedenheit der von $+B$ auf die Komponenten $+A$ bzw. $-A$ ausgeübten Kraft erklärt werden kann.

Einwirkung von 1 Mol Cinchonin auf 1 Mol r-Zimtsäuredibromid.

Den ersten auf dieser Grundlage zu erklärenden Versuch habe ich selbst vor nunmehr 25 Jahren ausgeführt und publiziert[1]).

Sucht man racemisches Zimtsäuredibrodmid in alkoholischer

[1]) Liebigs Ann. 271, 137, 1892; Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 26, 659, 1893.

Lösung mit 2 Mol Cinchonin zu trennen, der Gleichung entsprechend:

$$\begin{pmatrix}\text{d-Dibromid}\\ \text{l-Dibromid}\end{pmatrix} + 2\,(\text{d-Cinchonin}) = \begin{pmatrix}\text{d-Dibromid}\\ \text{d-Cinchonin}\end{pmatrix} + \begin{pmatrix}\text{l-Dibromid}\\ \text{d-Cinchonin}\end{pmatrix},$$

so scheidet sich die Gesamtmenge der beiden Salze ab. Die Säure aus dem abgeschiedenem Salzgemisch ist infolgedessen inaktiv. Da die Alkaloidsalze des Zimtsäuredibromids beim Erhitzen mit absolutem Alkohol nicht zersetzt werden, so wurde das Gemisch der beiden Cinchoninsalze durch Kochen mit absolutem Alkohol fraktioniert ausgezogen.

Das Salz des l-Dibromids mit d-Cinchonin ging zuerst in Lösung und ist danach in Alkohol leichter löslich als das Salz des d-Dibromids.

Läßt man nun auf das nämliche racemische Dibromid in absolut alkoholischer Lösung nur die halbe Menge Cinchonin einwirken, so scheidet sich der Gleichung entsprechend

$$\begin{pmatrix}\text{d-Dibromid}\\ \text{l-Dibromid}\end{pmatrix} + (\text{d-Cinchonin}) = \begin{pmatrix}\text{l-Dibromid}\\ \text{d-Cinchonin}\end{pmatrix} + (\text{d-Dibromid})$$

aus der Lösung das leichter lösliche Cinchoninsalz des l-Dibromids ab, während d-Dibromid unverbunden in Alkohol gelöst bleibt.

Die Tatsache, daß bei Anwendung dieser Mengenverhältnisse nicht das schwerer lösliche Cinchoninsalz des d-Dibromids ausgeschieden wird, sondern das leichter lösliche Cinchoninsalz des l-Dibromids läßt klar erkennen, daß sich das asymmetrische Cinchoninmolekül, wenn ihm die Wahl gelassen wird, lieber mit dem l- als mit dem d-Dibromid verbindet. Die vom Cinchonin ausgehende Kraft tritt also hier ganz eindeutig als asymmetrische Wahlverwandtschaft in Erscheinung, die die chemische Affinität vom Cinchonin zu dem l-Dibromid erhöht, während sie die Affinität des Cinchonins zu dem d-Dibromid vermindert[1]).

---

[1]) Der früher von mir mitgeteilte Versuch wurde neuerdings von Herrn Dr. Hilgendorff genau nach meinen Angaben nachgeprüft und bestätigt gefunden.

Von den in alkoholischer Lösung zusammengebrachten 20 g Dibromid und 10 g Cinchonin scheiden sich 15 g in Form des nach der Analyse neutralen Cinchoninsalzes (enthaltend 7,6 g Dibromid und 7,4 g

Eine wertvolle Bestätigung hat diese meine Beobachtung erfahren durch die später ausgeführten, aber vor mir ausführlicher publizierten Versuche von Lothar Meyer jun.[1]) und Liebermann[2]), die sich mit der Trennung des nämlichen racemischen Zimtsäuredibromids nach den beiden auch von mir angewandten Methoden, jedoch unter Verwendung des Alkaloids Strychnin beschäftigen.

Bei Anwendung von 2 Mol l-Strychnin auf racemisches Zimtsäuredibromid in alkoholischer Lösung scheidet sich aus der Lösung das am schwersten lösliche neutrale Salz des l-Dibromids ab, während das leichter lösliche neutrale Strychninsalz des d-Dibromids in der Mutterlauge verbleibt. Dieser Versuch beweist also, daß von den beiden isomeren neutralen Salzen des Strychnins mit dem d- bzw. l-Dibromid das Salz des l-Dibromids am schwersten in Alkohol löslich ist und deshalb zuerst zur Ausscheidung gelangt.

Als nun Liebermann meiner zweiten, ihm bekannten Versuchsanordnung entsprechend auf racemisches Dibromid nur ein Mol Strychnin einwirken ließ, so daß nur die Hälfte des angewandten Dibromids sich mit Strychnin verbinden konnte, trat die durch die Gleichung

$$\begin{pmatrix}\text{d-Dibromid}\\ \text{l-Dibromid}\end{pmatrix} + (\text{l-Strychnin}) = \begin{pmatrix}\text{d-Dibromid}\\ \text{l-Strychnin}\end{pmatrix} + (\text{l-Dibromid})$$

wiedergegebene Reaktion ein. Aus der alkoholischen Lösung krystallisierte das in Alkohol als leichter löslich erkannte Strychninsalz des d-Dibromids aus, während in der Mutterlauge freies l-Dibromid enthalten war.

Diese beiden Beispiele beweisen übereinstimmend, daß die asymmetrischen Alkaloidmoleküle Cinchonin bzw. Strychnin von

---

Cinchonin) ab, das bei der Zerlegung linksdrehendes Dibromid lieferte. Die Mutterlauge enthielt daher den Rest der 10 g Cinchonin, d. i. 2,6 g und 12,4 g Dibromid von denen 9,7 g ungebunden waren und die nach Trennung vom Cinchoninsalz das Drehungsvermögen: $[\alpha]_D = + 8{,}0^0$ besaßen. Der Versuch beweist, daß die Reaktion nicht quantitativ nach obiger Gleichung verläuft, zeigt jedoch einwandfrei, daß das Cinchonin bei Darbietung der spiegelbildlichen Dibromide das linksdrehende bei der Bindung bevorzugt, so daß neben racemischem ein Überschuß von rechtsdrehendem Dibromid unverbunden bleibt.

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **25**, 3121, 1892.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **26**, 248, 1893.

den beiden spiegelbildlichen Molekülen d- bzw. l-Dibromid eines zum Eingehen einer Verbindung bevorzugen und zwar in beiden Fällen dasjenige Dibromid, das mit dem Alkaloid das leichter lösliche Salz liefert und das das dem Alkaloid entgegengesetzt drehende Dibromid enthält.

Diese augenscheinliche Bevorzugung kann nur auf die Wirkung einer von dem asymmetrischen Molekül des Cinchonins bzw. Strychnins ausgehende Kraft zurückgeführt werden, die das Spiel der chemischen Affinität derart beeinflußt, daß das asymmetrische Alkaloid zwischen den beiden affinitätsgleichen, spiegelbildlichen Molekülen, dem d- und l-Dibromid, eines zur Verbindung auswählt und das andere unverbunden läßt und die ich deshalb als asymmetrische Wahlverwandtschaft bezeichnet habe[1]).

Nach dem Gesetz von der gleichen aber entgegengesetzten Wirkung der von spiegelbildlichen Molekülen ausgehenden Kräfte mußte mit den beiden nicht zur Verfügung stehenden spiegelbildlichen Alkaloiden: dem l-Cinchonin und dem d-Strychnin die entgegengesetzten Resultate erhalten werden, d. h. es mußte z. B. bei Einwirkung von 1 Mol d-Strychnin auf racemisches Dibromid sich das leichter lösliche Salz von d-Strychnin mit l-Dibromid ausscheiden und freies d-Dibromid in Lösung bleiben.

Daraus ergibt sich, daß bei der Reaktion asymmetrischer Moleküle untereinander für den Verlauf der Reaktion nicht mehr allein die chemische Affinität der aufeinander wirkenden Moleküle, sondern ganz besonders noch deren asymmetrische Wahlverwandtschaft ausschlaggebend ist. Dadurch bestätigt sich die bereits von Pasteur ausgesprochene Vermutung, daß die chemischen Affinitäten durch die molekulare Asymmetrie modifizierbar sind[2]).

---

[1]) Bei Abfassung dieser Betrachtungen fand ich, daß bereits van t'Hoff in der ersten Auflage seiner Broschüre (1877) S. 42, auf die Möglichkeit eines solchen Reaktionsverlaufs hingewiesen hat, indem er schreibt: Bringt man z. B. in eine aktive Mischung von n Molekülen einer rechtsdrehenden Säure mit n Molekülen derselben linksdrehenden Säure n Moleküle einer rechtsdrehenden Base, so wird diese sich mit der linksdrehenden Säure vereinigen und das entstandene Salz könnte durch Krystallisation von der nicht in Verbindung gegangenen rechtsdrehenden Säure abgeschieden werden.

[2]) Ostwald, Klassiker Nr. 28, Pasteur S. 30, **1860**.

Allerdings muß hervorgehoben werden, daß die bei der Pasteurschen Anordnung der Salzbildung einer Racemsäure und eines Alkaloids im Verhältnis von 2 Mol Säure auf 2 Mol Alkaloid zu beobachtende Verschiedenheit der beiden Salze:

$$\begin{pmatrix} +A \\ +B \end{pmatrix} \text{ und } \begin{pmatrix} -A \\ +B \end{pmatrix}$$

nicht auf eine Modifizierung der Affinität zurückgeführt werden darf, sondern wie ich schon öfter betont habe, allein dadurch bedingt ist, daß die beiden isomeren Salze weder kongruent noch spiegelbildlich sind und daher eigenschaftsverschieden und trennbar sein müssen.

Erst bei meiner Versuchsanordnung, bei der das Mengenverhältnis von 2 Mol Säure auf 1 Mol Alkaloid verwendet wird, ließ sich entscheiden, ob die Asymmetrie, trotz der gleichen Affinität der spiegelbildlichen Säuremoleküle gegenüber symmetrischer Basen, deren Reaktionsvermögen gegenüber den asymmetrischen Basen, zu beeinflussen vermag.

Die Wirkung der asymmetrischen Wahlverwandtschaft läßt sich am besten mit der der magnetischen Kraft vergleichen. Wie der Nordpol eines Magnets nur den Südpol eines anderen Magneten anzieht, dessen Nordpol aber abstößt, so zieht das Alkaloidmolekül vermöge der von ihm ausgehenden Kraft das eine Spiegelbild an und stößt das andere ab, trotz der auch zwischen den sich abstoßenden Molekülen vorhandenen chemischen Affinität, die in Erscheinung tritt, sobald genügend Alkaloid vorhanden ist, um die beiden spiegelbildlichen Säuremoleküle zu sättigen.

Auf Grund der besprochenen Erscheinungen ergibt sich, daß der in meiner Abhandlung: „Über den Ursprung optischaktiver Verbindungen in der lebenden Zelle usw.[1]“ aufgestellte Satz 2: „Chemisch und physikalisch identisch bis auf Drehungsvermögen und Hemiedrie sind weiterhin alle isomeren Verbindungen, deren Moleküle Spiegelbilder zueinander vorstellen“, in bezug auf die Gleichheit der Reaktionsgeschwindigkeit einer Ergänzung bedarf.

Wenn auch spiegelbildliche Moleküle gegenüber symmetrischen Molekülen die gleiche Reaktionsgeschwindigkeit besitzen,

[1]) Diese Zeitschr. 52, 440, 1913.

so beweisen die bei der Einwirkung von 1 Mol Cinchonin bzw. Strychnin auf 1 Racemmolekül Zimtsäuredibromid gewonnenen Resultate ganz einwandfrei, daß eines von den spiegelbildlichen Dibromiden die Verbindung mit dem Alkaloid bevorzugt, so daß diesem gegenüber nicht mehr von gleicher Affinität und gleicher Reaktionsgeschwindigkeit die Rede sein kann.

Die bei der Reaktion zweier spiegelbildlicher Moleküle, wie dem d- bzw. l-Zimtsäuredibromid, mit einem molekular asymmetrischen Alkaloid sich äußernde Gesamtaffinität setzt sich daher aus zwei Teilen zusammen, nämlich der bei beiden spiegelbildlichen Molekülen gleichen chemischen Affinität und einer additiven, positiven bzw. negativen Größe, die die chemische Affinität der einen Komponente der Racemverbindung dem gleichen Alkaloid gegenüber verstärkt, während sie der chemischen Affinität der anderen Komponente entgegenwirkt.

In allgemeinen Zeichen ausgedrückt erhält man, wenn unter $G_{(+A:+B)}$ die Gesamtaffinität der einen Komponente gegenüber dem Alkaloid $+B$ oder einer anderen molekular-asymmetrischen Verbindung und unter $G_{(-A:+B)}$ die Gesamtaffinität der anderen Komponente, gegenüber dem gleichen asymmetrischen Molekül, unter a die bei beiden Komponenten gleiche chemische Affinität, und unter $\pm w$ die bald positive, bald negative Größe der durch die asymmetrische Wahlverwandtschaft bewirkte Anziehung oder Abstoßung verstanden wird, für die Gesamtaffinität der Komponenten einer Racemverbindung gegenüber der nämlichen asymmetrischen Verbindung $+B$ die beiden Gleichungen:

$$G_{(+A:+B)} = a + w$$
$$G_{(-A:+B)} = a - w.$$

Prinzipiell neue Trennungsmethode einer Racemverbindung in ihre optisch aktiven Komponenten.

Jede Verschiedenheit im Verhalten zweier spiegelbildlicher Moleküle muß aber auch die Trennbarkeit derselben auf Grund dieses ihres verschiedenen Verhaltens zur Folge haben.

In der Tat stellt die von mir zuerst angewandte Versuchsanordnung, d. i. die Einwirkung von 1 Mol Alkaloid auf racemisches Zimtsäuredibromid, bei der vorzugsweise neben dem Salz der einen Komponente die

andere Komponente in freiem Zustand auftritt, eine prinzipiell neue Trennungsmethode spiegelbildlicher Moleküle vor, die auf der verschiedenen Wahlverwandtschaft eines asymmetrischen Moleküls gegenüber spiegelbildlichen Molekülen beruht.

Die Anwendbarkeit dieser Methode richtet sich naturgemäß nach der Größe von w, die ihrerseits abhängig ist von der Intensität der von den asymmetrischen Molekülen aufeinander ausgeübten Kraft.

Wird $w = 0$, so folgen die Antipoden gegenüber dem Alkaloid allein der bei Antipoden festgestellten gleichen chemischen Affinität und es wird sich das den beiden Antipoden im Verhältnis:

$$\binom{+A}{-A} + (+B)$$

dargebotene Alkaloid gleichmäßig über die beiden spiegelbildlichen Komponenten verteilen.

Das obige Mengenverhältnis ist gleich dem folgenden:

$$2\binom{+A}{-B} + 2(+B),$$

das sich zerlegen läßt in

$$\binom{+A}{-A} + 2(+B) + \binom{+A}{-A}$$

und das zu dem Endprodukt der Reaktion:

$$\binom{+A}{+B} + \binom{-A}{+B} + \binom{+A}{-A}$$

führen kann.

Wenn w gleich Null wird, so wird sich der Pasteurschen Versuchsanordnung entsprechend die Hälfte der Racemverbindung mit der Gesamtmenge des Alkaloids zu den beiden verschieden löslichen Salzen der d- und l-Säure vereinigen, während die andere Hälfte der Racemsäure unverändert bleibt, die Bildung einer Komponente in freier aktiver Form ist unter dieser Voraussetzung ausgeschlossen.

Es ist daher verständlich, daß, je kleiner w wird, desto schwieriger der Nachweis der einen Komponente in freier Form sich gestalten muß.

Hiernach ist anzunehmen, daß bei der Einwirkung von der

zur Neutralisation der Hälfte Racemsäure erforderlichen Menge von Brucin auf racemische Mandelsäure und racemische Methyläthylessigsäure die durch die asymmetrische Wahlverwandtschaft gegebene Größe $+w$ nicht sehr groß sein kann, da Marckwald beim Auszug der nicht an Alkaloid gebundenen Säure mit Äther eine optische Aktivität nicht beobachten konnte.

Da auch bei meinen sowie Liebermanns Versuchen mit Zimtsäuredibromid und den Alkaloiden Cinchonin und Strychin nicht sofort eine der oben gegebenen Gleichung entsprechende vollständige Trennung in das Salz der einen Komponente und in die andere freie Komponente erreicht wird, so kann die Verteilung der aufeinander wirkenden drei Moleküle $+A$, $-A$ und $+B$ nicht ganz so einheitlich erfolgen, als man nach der obigen Gleichung erwarten sollte.

Je nach der Größe von w wird sich $+B$, wenn es auch die Verbindung mit $+A$ bevorzugt, doch zu einem geringen Teil auch mit $-A$ verbinden können, wodurch ein genauerer Einblick in den jeweiligen Reaktionsverlauf von Racemat und 1 Mol Alkaloid erschwert wird.

Auch ist zu berücksichtigen, daß der Bildung des Alkaloidsalzes der einen Säurekomponente und dem Freiwerden der anderen Komponente die Überwindung der zwischen den Komponenten wirksamen asymmetrischen Wahlverwandtschaft vorausgehen muß. Unter Umständen ist daher auch mit der Bildung stabiler saurer Salze zu rechnen.

Ausführung und Belege zu 2.

Verhalten einer Racembase zu einer Racemsäure.

Ein weiterer überzeugender Beweis dafür, daß ein asymmetrisches Molekül bei der Salzbildung eine der spiegelbildlichen Komponenten einer Racemverbindung bevorzugt und deshalb zu dieser eine größere Affinität besitzt als zu deren Spiegelbild, läßt sich durch das Studium der Einwirkung einer Racemsäure auf eine Racembase erbringen.

Bei der Salzbildung einer Racemsäure $\begin{pmatrix} +A \\ -A \end{pmatrix}$ und einer Racembase $\begin{pmatrix} +B \\ -B \end{pmatrix}$ ist a priori die Bildung der folgenden 4 Salze nebeneinander zu erwarten:

$$1\begin{pmatrix}+A\\+B\end{pmatrix}\ 2\begin{pmatrix}+A\\-B\end{pmatrix}\ 3\begin{pmatrix}-A\\+B\end{pmatrix}\ 4\begin{pmatrix}-A\\-B\end{pmatrix},$$

von denen sich die Salze 1 und 4 sowie 2 und 3, da sie Spiegelbilder zueinander vorstellen, zu den folgenden Racemverbindungen:

$$1\begin{pmatrix}+A, & -A\\+B, & -B\end{pmatrix} \text{ und } 2\begin{pmatrix}+A, & -A\\-B, & +B\end{pmatrix}$$

vereinigen müssen.

Diese beiden Racemverbindungen müssen nun zu gleichen Teilen auftreten, wenn die Verwandtschaft von $+B$ die gleiche ist zu $+A$ wie zu $-A$ und ebenso die von $-B$ die gleiche ist zu $+A$ wie zu $-A$.

Bei der Wechselwirkung von $\begin{pmatrix}+A\\-A\end{pmatrix}$ auf $\begin{pmatrix}+B\\-B\end{pmatrix}$ muß sich $+B$ ebenso oft mit $+A$ als mit $-A$, und $-B$ ebenso oft mit $+A$ als mit $-A$ verbinden, wenn anders nicht $+B$ eine der spiegelbildlichen Komponenten $+A$, $-A$, oder $-B$ eine der nämlichen Komponenten vermöge der verschiedenen Wahlverwandtschaft bevorzugt.

Bevorzugt aber $+B$ eine der beiden Komponenten $+A$ und $-A$, so folgt nach dem Gesetz von der entgegengesetzten aber gleichen Wirkung, der von spiegelbildlichen Molekülen ausgehenden Kräfte, daß auch $-B$ in gleicher Weise eine und zwar die entgegengesetzte Komponente der Racemverbindung $\begin{pmatrix}+A\\-A\end{pmatrix}$ bevorzugt.

Der Reaktionsverlauf muß dann ergeben, daß von den vier denkbaren Salzen nur zwei, die im Verhältnis von Spiegelbildern stehen und daher in Form eines einzigen Racemsalzes in Erscheinung treten müssen, gebildet werden.

Welcher Formel das gebildete Racemsalz entspricht, muß jeweils durch den Versuch festgestellt werden.

Angenommen, in einem bestimmten Falle würde sich die Umsetzung zwischen zwei Racemverbindungen in der folgenden Weise vollziehen:

$$\begin{pmatrix}+A\\-A\end{pmatrix}+\begin{pmatrix}+B\\-B\end{pmatrix}=\begin{pmatrix}+A, & -A\\+B, & -B\end{pmatrix},$$

so würde daraus zu schließen sein, daß in diesem Falle die Säure $+A$ die Base $+B$ und dementsprechend auch die Säure

$-A$ die Base $-B$ bevorzugt, so daß auf Grund der asymmetrischen Wahlverwandtschaft ausschließlich eine Verbindung von $+A$ und $+B$ bzw. $-A$ und $-B$ zustande käme.

Die Gesamtaffinität G, der der Eintritt einer Bindung von $+A$ und $+B$ zu verdanken ist, ist auch hier auszudrücken durch:

$$G_{(+A\,:\,+B)} = a + w,$$

d. h. die den Eintritt der Bindung von $+A$ und $+B$ bewirkende Gesamtaffinität von $+A$ besteht aus der chemischen Affinität a und der durch die asymmetrische Wahlverwandtschaft gegebenen positiven Größe $+w$, die also die Wirkung der chemischen Affinität verstärkt.

Die chemische Affinität von $-A$ ist an sich gleich der chemischen Affinität von $+A$. Gegenüber von $+B$ aber wirkt ihr die asymmetrische Wahlverwandtschaft, ausgedrückt durch die negative Größe $-w$ entgegen, so daß $-A$ die Verbindung mit $+B$ ablehnt, wenn ihr gleichzeitig die Möglichkeit einer Verbindung mit $-B$ geboten wird.

Trotzdem ist es natürlich möglich, ganz allein auf Grund der chemischen Affinität die Säure $+A$ und die Base $-B$ und ebenso die Säure $-A$ und die Base $+B$ zu Salzen miteinander zu verbinden, wenn zu diesem Versuche einheitliche, höchstdrehende Säure $+A$ und Base $-B$ bzw. von Säure $-A$ und Base $+B$ zur Verfügung stehen.

Mit Hilfe dieser Säuren und Basen kann man natürlich leicht die beiden Salze:

$$\begin{pmatrix}+A\\-B\end{pmatrix} \text{ und } \begin{pmatrix}-A\\+B\end{pmatrix}$$

darstellen, die in ihren Eigenschaften gleich, im Drehungsvermögen gleich aber entgegengesetzt sein müssen, da sie Spiegelbilder zueinander sind, die bei der Umsetzung der beiden Racemverbindungen:

$$\begin{pmatrix}+A\\-A\end{pmatrix} \text{ und } \begin{pmatrix}+B\\-B\end{pmatrix}$$

ebenfalls entstehen sollten, deren Bildung aber durch die asymmetrische Wahlverwandtschaft verhindert wird.

Die Gesamtaffinität von $+A$ zu $-B$ und die Gesamtaffinität von $-A$ zu $+B$ die nach dem Gesetz von der gleichen aber entgegengesetzten Wirkung der von spiegelbildlichen Mole-

külen ausgehenden Kräfte untereinander gleich sind, müssen ausgedrückt werden durch die Gleichungen:

$$G_{(+A\,:\,-B)} = a - w$$
$$G_{(-A\,:\,+B)} = a - w,$$

während nach der gemachten Voraussetzung

$$G_{(+A\,:\,+B)} = a + w$$
$$G_{(-A\,:\,-B)} = a + w$$

zu schreiben waren.

Aus dieser Verschiedenheit der Gesamtaffinitäten, die sich aus der chemischen Affinität und der asymmetrischen Wahlverwandtschaft von $+A$ zu $+B$ bzw. $-A$ zu $-B$ und der von $+A$ zu $-B$ bzw. $-A$ zu $+B$ zusammensetzen, folgt dann ungezwungen, daß, wenn man die beiden zuletzt genannten Salze:

$$\begin{pmatrix}+A\\-B\end{pmatrix} \text{ und } \begin{pmatrix}-A\\+B\end{pmatrix}$$

aufeinander einwirken läßt, eine der asymetrischen Wahlverwandtschaft entsprechende Umsetzung nach der Gleichung:

$$\begin{pmatrix}+A\\-B\end{pmatrix} + \begin{pmatrix}-A\\+B\end{pmatrix} = \begin{pmatrix}+A\\+B\end{pmatrix} + \begin{pmatrix}-A\\-B\end{pmatrix}$$

stattfinden muß.

Da die so entstehenden Salze gleichfalls Spiegelbilder zueinander sind, so müssen sie in der Form der Racemverbindung:

$$\begin{pmatrix}+A, & -A\\+B, & -B\end{pmatrix}$$

auftreten, die identisch ist mit dem bei Einwirkung der Racemsäure auf die Racembase als einzigen Reaktionsprodukt entstehenden Salz.

Läßt sich nun der experimentelle Nachweis liefern, daß bei einem bestimmten Beispiel durch Wechselwirkung einer Racemsäure auf eine Racembase nur 2 von den vier denkbaren Kombinationen in Form einer Racemverbindung entstehen, und ferner der Nachweis, daß sich die gleiche Racemverbindung bildet bei Einwirkung der auf besonderem Weg hergestellten 2 Kombinationen, die bei der Reaktion von Racemsäure auf Racembase nicht entstehen, so ist damit der einwandfreie Beweis erbracht, daß die Bildung dieser letzteren Kombinationen bei Einwirkung der Racemverbindungen aufeinander, deshalb verhindert wird, weil die Bindung der einen Kompo-

nente der Racembase an die eine Komponente der Racemsäure auf Grund der asymmetrischen Wahlverwandtschaft bevorzugt wird.

Einen ganz ausgezeichneten Beleg für die Richtigkeit dieser Schlußfolgerungen habe ich in der im Jahre 1898 mitgeteilten sorgfältigen Experimentaluntersuchung Marckwalds[1]) über die Salze der Weinsäuren mit dem α-Pipecolin aufgefunden.

Belegbeispiel.

Aus den reinen Basen, dem d- bzw. l-α-Pipecolin und reiner d- bzw. l-Weinsäure stellte Marckwald einfach durch Kombination die 4 theoretisch denkbaren Salze dar:

1. d-weinsaures d-Pipecolin,
2. l-weinsaures l-Pipecolin,
3. d-weinsaures l-Pipecolin,
4. l-weinsaures d-Pipecolin.

Die Salze 1 und 2, die Spiegelbilder zueinander vorstellen, sind in ihren Eigenschaften bis auf die Drehungsrichtung miteinander identisch. Dasselbe gilt von den Salzen 3 und 4.

Die unter sich identischen Salze 1 und 2 unterscheiden sich von den unter sich identischen Salzen 3 und 4 im Schmelzpunkt und dem Krystallwassergehalt und dem Schmelzpunkt der wasserfreien Salze.

Durch Vereinigung der Salze 1 und 2 bildet sich der Gleichung gemäß das Racemsalz:

$$\begin{pmatrix}\text{d-Weins.}\\ \text{d-Pipec.}\end{pmatrix} + \begin{pmatrix}\text{l-Weins.}\\ \text{l-Pipec.}\end{pmatrix} = \begin{pmatrix}\text{d-Weins., l-Weins.}\\ \text{d-Pipec., l-Pipec.}\end{pmatrix},$$

das sich in seinen Eigenschaften scharf von den 4 obigen Salzen unterscheidet.

Genau das gleiche Salz erhielt Marckwald bei Einwirkung von rac. Weinsäure auf rac. α-Pipecolin. Seine Bildung muß in diesem Falle durch die Gleichung ausgedrückt werden:

$$\begin{pmatrix}\text{d-Weins.}\\ \text{l-Weins.}\end{pmatrix} + \begin{pmatrix}\text{d-Pipec.}\\ \text{l-Pipec.}\end{pmatrix} = \begin{pmatrix}\text{d-Weins.}\\ \text{d-Pipec.}\end{pmatrix} + \\ + \begin{pmatrix}\text{l-Weins.}\\ \text{l-Pipec.}\end{pmatrix} = \begin{pmatrix}\text{d-Weins., l-Weins.}\\ \text{d-Pipec., l-Pipec.}\end{pmatrix},$$

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **29**, 43, 1898.

d. h. bei der Umsetzung der rac. Weinsäure und des rac. Pipecolins bevorzugt die d-Weinsäure das d-Pipecolin und die l-Weinsäure das l-Pipecolin zur Verbindung, wodurch die Bildung des der Theorie nach gleichzeitig zu erwartenden zweiten Racemsalzes der Formel:

$$\begin{pmatrix}\text{d-Weins.,} & \text{l-Weins.}\\ \text{l-Pipec.,} & \text{d-Pipec.}\end{pmatrix}$$

verhindert wird.

Auf alle Fälle aber hätte man die Entstehung dieses zweiten Racemsalzes erwarten müssen bei der Vereinigung der Salze 3 und 4 gemäß der Gleichung:

$$\begin{pmatrix}\text{d-Weins.}\\ \text{l-Pipec.}\end{pmatrix} + \begin{pmatrix}\text{l-Weins.}\\ \text{d-Pipec.}\end{pmatrix} = \begin{pmatrix}\text{d-Weins.,} & \text{l-Weins.}\\ \text{l-Pipec.,} & \text{d-Pipec.}\end{pmatrix}.$$

Wie aber Marckwald gefunden hat, entsteht bei der Vereinigung der Salze 3 und 4 nicht dieses zweite Racemsalz, sondern das gleiche obige Racemsalz, das auch bei der Vereinigung der Salze 1 und 2, sowie bei der Einwirkung von Racemsäure auf Racembase gebildet wird.

Dieser höchst merkwürdige, wichtige Befund ist aber nur unter der Annahme zu verstehen, daß vor der Bildung dieses Salzes die aufeinander wirkenden Salze 3 und 4 sich der folgenden Gleichung entsprechend in die Salze 1 und 2 umgesetzt haben:

$$\begin{pmatrix}\text{d-Weins.}\\ \text{l-Pipec.}\end{pmatrix} + \begin{pmatrix}\text{l-Weins.}\\ \text{d-Pipec.}\end{pmatrix} = \begin{pmatrix}\text{d-Weins.}\\ \text{d-Pipec.}\end{pmatrix} + \begin{pmatrix}\text{l-Weins.}\\ \text{l-Pipec.}\end{pmatrix},$$

die sich dann zu dem ersten Racemsalz vereinigen.

Diese Umsetzung der beiden Salze entspricht genau der in der anorganischen Chemie bekannten Umsetzung von zwei Salzen zweier verschiedener Säuren und zweier verschiedener Basen, die sich nach dem allgemeinen Schema:

$$\overset{-}{A}\overset{+}{B} + \overset{-}{C}\overset{+}{D} = \overset{-}{A}\overset{+}{D} + \overset{-}{C}\overset{+}{B}$$

vollzieht, in dem die Zeichen $+$ und $-$ den elektrochemischen Gegensatz zum Ausdruck bringen.

Bezeichnet man bei der Umsetzung der Salze 3 und 4 in die Salze 1 und 2 die d- bzw. l-Weinsäuremoleküle mit $\pm A$, die d- bzw. l-Pipecolinmoleküle mit $\pm B$, so läßt sich die Umsetzung der beiden Salze ganz entsprechend durch die folgende Gleichung ausdrücken:

$$(+\overset{-}{A} - \overset{+}{B}) + (-\overset{-}{A} + \overset{+}{B}) = (+\overset{-}{A} + \overset{+}{B}) + (-\overset{-}{A} - \overset{+}{B}).$$

Die Ursache für den Eintritt des Umsatzes muß in beiden Fällen die gleiche sein, nämlich die Verschiedenheit in der Verwandtschaft der sich lösenden und der sich neu bindenden Teile zueinander[1]).

Für die Umsetzung des weinsauren Pipecolins ergibt sich, daß die Verwandtschaft von d-Weinsäure zu d-Pipecolin und der ihr gleichen von l-Weinsäure zu l-Pipecolin verschieden ist von der nach dem Gesetz von der gleichen, aber entgegengesetzten Wirkung der von spiegelbildlichen Molekülen ausgehenden Kräfte einander gleichen Verwandtschaft von d-Weinsäure zu l-Pipecolin bzw. l-Weinsäure zu d-Pipecolin.

Diese Verschiedenheit wird nur verständlich, wenn außer der chemischen Affinität der sich umsetzenden Teile eine die chemische Affinität verstärkende bzw. schwächende molekulare Verwandtschaft der asymmetrischen Teile in Wirksamkeit tritt, die ich, da sie nur bei der Wechselwirkung asymmetrischer Moleküle in Erscheinung tritt, als asymmetrische Wahlverwandtschaft $= \pm w$ bezeichnet habe.

Durch diese Bezeichnung kommt am besten zum Ausdruck, daß durch diese molekulare Verwandtschaft eine Auswahl bestimmter Kombinationen unter der Gesamtzahl der theoretisch möglichen Kombinationen getroffen wird.

Die hier festgestellte Tatsache, daß die von einem asymmetrischen Molekül auf zwei spiegelbildliche Moleküle ausgeübte Kraft verschieden ist und dadurch die Bildung bestimmter

---

[1]) Die Tatsache der Umsetzung von einem Racemsalz in das andere, die beweisend ist für die verschiedene asymmetrische Wahlverwandtschaft der einzelnen asymmetrischen Komponenten, bleibt aber auch bestehen, wenn man die unwahrscheinliche, jedoch nach dem bisher vorliegenden experimentellen Material nicht sicher auszuschaltende Annahme machen würde, daß dem bei den Versuchen Marckwalds allein erhaltenen rac. weinsauren Pipecolin nicht die Formel 1, sondern die Formel 2 zukäme. Es müßte alsdann geschlossen werden, daß sich dieses Salz sowohl bei der Einwirkung der Racemsäure und der Racembase, als auch durch direkte Vereinigung der für sich hergestellten Salze 3 und 4 bildet, während seine Bildung bei der Einwirkung der Salze 1 und 2 alsdann nur verständlich wäre nach Umsetzung der Salze 1 und 2 in die Salze 3 und 4. Der Schluß auf die Umsetzung, die für die Verschiedenheit der Affinitäten der asymmetrischen Komponenten maßgebend ist, bleibt in beiden Fällen zwingend.

Kombinationen asymmetrischer Moleküle zugunsten der Bildung anderer Kombinationen verhindert oder verlangsamt wird, ist für die Biochemie von ungeahnter Wichtigkeit, da man fortan die bei den Lebensvorgängen sich vollziehenden chemischen Reaktionen nicht mehr allein auf das Spiel der chemischen Affinitäten zurückführen darf. Da bei den Lebensvorgängen vorzugsweise asymmetrische Moleküle miteinander in Reaktion treten, so muß der Ablauf dieser Reaktionen ganz besonders von dem Spiel der asymmetrischen Wahlverwandtschaft der in Reaktion tretenden asymmetrischen Moleküle abhängig sein.

Der bisher so rätselhaft erscheinende Unterschied zwischen der lebenden und der toten Natur ist somit darauf zurückzuführen, daß bei der letzteren allein die chemische Affinität maßgebend ist, während bei ersterer die asymmetrische Wahlverwandtschaft neben der chemischen Affinität, diese stärkend oder schwächend, eine ausschlaggebende Rolle spielt.

Es handelt sich also bei der Chemie der lebenden Natur nicht mehr um die Wirksamkeit einer unbekannten Lebenskraft, sondern um eine von den asymmetrischen Molekülen ausgehende Kraft, die unter den denkbaren Kombinationen eine Auslese bewirkt.

Die bereits von Pasteur vermutete Veränderung der chemischen Affinität durch die Asymmetrie findet ihre einfache Erklärung durch die auf Grund der angeführten Beispiele bewiesene Anziehung bzw. Abstoßung eines asymmetrischen Moleküls gegenüber spiegelbildlichen Molekülen.

Wie gezeigt, muß die Gesamtaffinität der in bezug auf ihre chemische Affinität gleichen Antipoden gegenüber von einem asymmetrischen Molekül ausgedrückt werden durch die Gleichung:

$$G = a \pm w,$$

in der G die Gesamtaffinität, a die chemische Affinität, und $\pm w$ den positiven bzw. negativen Wert der asymmetrischen Wahlverwandtschaft zum Ausdruck bringt.

Wie schon die bisherigen Besprechungen ergeben haben. kann die Größe von w sehr verschieden sein. Würde sie $= 0$, so richtet sich der Reaktionsverlauf lediglich nach der chemischen Affinität der aufeinander wirkenden Moleküle.

Die Wirkung von *w* kann, wie in den angeführten Beispielen gezeigt ist, nur in Erscheinung treten, wenn die Mengenverhältnisse derartige sind, daß die den Antipoden dargereichte asymmetrische Verbindung sich einen der Antipoden zur Eingehung einer Verbindung auswählen kann.

Bei den zu Racemverbindungen vereinigten Antipoden hat man allein die asymmetrische Wahlverwandtschaft als Ursache des Eintritts einer Verbindung und des Zusammenhaltens der Antipoden zu betrachten.

Der von Marckwald durchgeführte Versuch hat gezeigt, daß bei der Einwirkung von rac. Weinsäure auf rac. α-Pipecolin auf Grund der verschiedenen asymmetrischen Wahlverwandtschaft der spiegelbildlichen Säurekomponenten zu den spiegelbildlichen Basenkomponenten von den theoretisch zu erwartenden zwei Racemsalzen nur eins entsteht.

Aus dem Nachweis der Umsetzung der für sich dargestellten Einzelsalze 3 und 4 in die Salze 1 und 2 unter Bildung des einen der möglichen Racemsalze ergibt sich, daß das andere mögliche Racemsalz bei der Wechselwirkung von rac. Weinsäure und rac. α-Pipecolin nicht entstehen kann, da es sich, wenn es vorübergehend gebildet würde, umsetzen müßte in ersteres Racemsalz.

Man wird daraus folgern dürfen, daß auch bei der Wechselwirkung anderer Racemsäuren mit anderen Racembasen in Gegenwart eines Lösungsmittels von den denkbaren zwei Racemsalzen sich nur eins bildet, da bei der Salzbildung von Säure und Base immer die Umsetzung in diejenigen Salze stattfinden wird, deren Komponenten die größte Gesamtaffinität und damit auch die größte asymmetrische Wahlverwandtschaft zueinander besitzen.

Abweichende Resultate wird man aber erwarten dürfen, wenn die asymmetrischen Komponenten nicht mehr durch die leicht lösbare Bindung der Salzbildung, sondern durch Kohlenstoffbindung, Esterbindung oder andere nicht mehr so leicht lösbare Bindung miteinander verknüpft werden.

Bei Eintritt derartiger Reaktionen wird zwar auch die asymmetrische Wahlverwandtschaft das vorzugsweise Zustandekommen einer Verbindung der sich am meisten anziehenden Komponenten befördern. Da aber die lediglich nach der che-

mischen Verwandtschaft sich vereinigenden Komponenten nach Eintritt der Bindung sich nicht mehr umsetzen können in die Verbindung, deren Komponenten die größte asymmetrische Wahlverwandtschaft zueinander besitzen und daher bestehen bleiben, so ist bei solchen Reaktionen auch mit dem Auftreten, wenn auch kleinerer Mengen derjenigen Kombinationen zu rechnen, deren Komponenten ihre Vereinigung allein der chemischen Verwandtschaft zu verdanken haben.

Auslese bei dem synthetischen Aufbau von Racemverbindungen mit zwei asymmetrischen Kohlenstoffatomen.

Bei der Einwirkung einer Racemsäure auf eine Racembase findet auf Grund der asymmetrischen Wahlverwandtschaft unter den vier zu erwartenden Kombinationen eine Auslese zugunsten der Bildung von nur zwei Kombinationen statt.

Die in Lösung enthaltenen 4 Komponenten der Racemsäure und der Racembase $+A$, $-A+B$, $-B$ kombinieren sich allein zu dem Salz:

$$\begin{pmatrix} +A, & -A \\ +B, & -B \end{pmatrix}.$$

Diese Auslese auf Grund der asymmetrischen Wahlverwandtschaft ist für das Verständnis der in der lebenden Natur sich abspielenden Vorgänge von größter Wichtigkeit.

Bei der Einwirkung von Racemsäure und Racembase treten die fertig gebildeten asymmetrischen Teile $+A$, $-A$, $+B$, $-B$ in der leicht lösbaren Bindung von Salzen zusammen.

Bei dem Aufbau racemischer Verbindungen mit 2 asymmetrischen Kohlenstoffatomen verlangt die Theorie genau ebenso wie bei der Einwirkung von Racemsäure auf Racembase die Bildung von 2 Racemverbindungen, die aus 4 optisch aktiven Komponenten bestehen.

Bezeichnet man die durch die Synthese sich bildenden asymmetrischen Kohlenstoffatome mit $+a$, $-a$ bzw. mit $+b$, $-b$, so hat man unter der Voraussetzung, daß alle an der Entstehung der 2 asymmetrischen Kohlenstoffatome beteiligten Kräfte einander gleich sind, zu erwarten, daß zu genau gleichen Teilen die 4 folgenden Kombinationen:

$$\begin{pmatrix}+a\\+b\end{pmatrix}\begin{pmatrix}+a\\-b\end{pmatrix}\begin{pmatrix}-a\\+b\end{pmatrix}\begin{pmatrix}-a\\-b\end{pmatrix}$$

in Form der beiden Racemate

$$\begin{pmatrix}+a, & -a\\+b, & -b\end{pmatrix} \text{ und } \begin{pmatrix}+a, & -a\\-b, & +b\end{pmatrix}$$

entstehen.

Lehrt die Erfahrung aber, daß bei keiner Synthese alle der Theorie nach zu erwartenden Kombinationen zu gleichen Teilen, d. h. gleiche Mengen der beiden obigen Racemverbindungen, auftreten, sondern daß stets eine der Racemverbindungen vorzugsweise entsteht, so folgt daraus, daß auch bei der Synthese von Verbindungen mit 2 asymmetrischen Kohlenstoffatomen eine Auslese zugunsten der Bildung bestimmter Konfigurationen stattfindet, die natürlich gleichfalls auf eine verschiedene, durch die Asymmetrie bedingte Wahlverwandtschaft der sich zu asymmetrischen Kohlenstoffatomen vereinigenden Teile zurückgeführt werden muß.

Eine solche Auslese bei dem Aufbau von Verbindungen mit 2 asymmetrischen Kohlenstoffatomen kann nicht auf diese beschränkt bleiben, sondern muß sich auch bei der Synthese von Molekülen mit mehr asymmetrischen Kohlenstoffatomen bemerkbar machen.

Schon im Jahre 1899 habe ich in meiner Abhandlung: Zur Kenntnis der α-Amidosäuren, in dem Abschnitt: „Über die Bildung der stereoisomeren Diphenyloxäthylaminbasen vom Standpunkt der van 'tHoffschen Theorie aus betrachtet“[1]), auf die bei der Synthese dieser Basen in Erscheinung tretende Auslese hingewiesen.

Die Untersuchung über die synthetische Bildung der Diphenyloxäthylaminbasen:

$$\begin{array}{l} C_6H_5-CHOH \\ \qquad\quad | \\ C_6H_5-CHNH_2 \end{array},$$

die 2 asymmetrische Kohlenstoffatome enthalten und, wie gezeigt, in 4 Kombinationen in Form von 2 Racemverbindungen zu erwarten sind, hat ergeben, daß zwar die beiden Racemverbindungen nebeneinander jedoch in sehr verschiedener Menge entstehen.

[1]) Liebigs Ann. 307, 40, 1899.

Die Synthese dieser Basen bei der Kondensation von Benzaldehyd und Glykokoll ist der Wechselwirkung einer Racembase auf seine Racemsäure an die Seite zu stellen. Man braucht sich nur sowohl den Benzaldehyd als das Glykokoll meiner Theorie entsprechend als Racemate in den asymmetrischen Lückenformeln:

$$\left(C_6H_5{-}C\begin{array}{l} \diagup H \\ {-}OL, \\ \diagdown L \end{array} \quad \begin{array}{r} H\diagdown \\ LO{-} \\ L\diagup \end{array}C{-}C_6H_5 \right)$$

$$\text{und} \left(NH_2CH_2{-}C\begin{array}{l} \diagup OH \\ {-}L, \\ \diagdown OL \end{array} \quad \begin{array}{r} HO\diagdown \\ L{-} \\ LO\diagup \end{array}C{-}CH_2NH_2 \right)$$

reagierend zu denken, dann erscheint es nur natürlich, daß bei der Kondensation der genannten Körper fast ausschließlich das racemische, dem Traubensäuretypus entsprechende Isodiphenyloxäthylamin von dem Symbol:

$$\begin{pmatrix} +a, & -a \\ +b, & -b \end{pmatrix}$$

neben nur verschwindenden Mengen der der Mesoweinsäure entsprechenden Diphenyloxäthylaminbase des Symbols:

$$\begin{pmatrix} +a, & -a \\ -b, & +b \end{pmatrix}$$

entsteht.

Die bei dieser Synthese in Erscheinung tretende Auslese muß umgekehrt als Beweis betrachtet werden für die Berechtigung der durch meine Theorie gegebenen Auffassung, Benzaldehyd und Glykokoll in einer durch die Lückenformel gegebenen asymmetrischen Konfiguration zum Ausdruck zu bringen.

Die von Iwan Ostromiszlevsky[1]) beobachtete Rechts- und Linkshemiedrie bei Glykokollkrystallen spricht gleichfalls zugunsten meiner Auffassung.

Während bei der Umsetzung von rac. Pipecolin und rac. Weinsäure allein das dem Typus:

$$\begin{pmatrix} +A, & -A \\ +B, & -B \end{pmatrix}$$

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. 41, 3035.

entsprechende Racemsalz entstand, da sich etwa nebenher gebildetes Salz:

$$\begin{pmatrix} +A, & -A \\ -B, & +B \end{pmatrix},$$

wie gefunden wurde, in ersteres Salz umsetzt, bleibt bei der Bildung der Diphenyloxäthylaminbasen, der in geringer Menge sich bildende Typus:

$$\begin{pmatrix} +a, & -a \\ -b, & +b \end{pmatrix}$$

bestehen, da er sich der Kohlenstoffverkettung wegen nicht in den anderen Typus umzusetzen vermag.

Die vorzugsweise Bildung des Typus:

$$\begin{pmatrix} +a, & -a \\ +b, & -b \end{pmatrix}$$

muß auch hier auf die Bevorzugung durch die asymmetrische Wahlverwandtschaft zurückgeführt werden.

Der Umstand, daß die in so verschiedener Menge gebildeten beiden Typen der Base inaktiv sind, läßt erkennen, daß die Komponenten der beiden Typen je zu gleicher Zahl entstehen.

Abweichend von der Synthese der Diphenyloxäthylaminbasen durch Kondensation von rac. Benzaldehyd mit Glykokoll, bildet sich bei der Synthese der nämlichen Basen durch Reduktion von Benzoinoxim:

$$\begin{array}{l} C_6H_5\text{—CHOH} \\ \quad | \diagup L \\ C_6H_5\text{—C—N}\left\langle\begin{array}{l} L \\ OH \end{array}\right. \end{array} + H_4 = \begin{array}{l} C_6H_5\text{—CHOH} \\ \quad\quad | \\ C_6H_5\text{—CHNH}_2 \end{array} + H_2O$$

fast ausschließlich Diphenyloxäthylamin neben nur sehr geringen Mengen der Isobase.

Die Bildung dieser Basen aus dem Benzoinoxim entspricht vollständig dem Vorgang bei einer asymmetrischen Synthese.

Das Benzoinoxim enthält ein asymmetrisches Kohlenstoffatom in +- und —-Form und eine in asymmetrischer Konfiguration einstellbare, ungesättigte Gruppe, die Oximidogruppe.

Wie bei allen asymmetrischen Synthesen wird durch die Induktion des +- bzw. —-asymmetrischen Kohlenstoffatoms die ungesättigte Oximidogruppe vorzugsweise in der einen asymmetrischen Konfiguration eingestellt. Bei der darauf-

folgenden Wasserstoffaufnahme bildet sich dann fast ausschließlich die dieser asymmetrischen Konfiguration entsprechende Amidoverbindung in ihrer Racemform.

Am Schluß meiner Abhandlung schrieb ich: „Man sieht also, daß bereits hier bei der Bildung stereoisomerer Körper die Natur eine Auslese unter den theoretisch möglichen Modifikationen eintreten läßt. Mit dieser Ausschaltung bestimmter stereoisomerer Modifikationen sind aber auch deren denkbare Abkömmlinge ausgeschaltet. Denn bei dem Aufbau von Körpern mit mehr asymmetrischen Kohlenstoffatomen aus solchen mit einem oder zwei asymmetrischen Kohlenstoffatomen kommen natürlich als Ausgangsmaterial nur die Modifikationen in Betracht, die vorher nicht ausgeschaltet worden sind."

„Auf diese Weise ist es verständlich, weshalb man in der Natur von den Körpern mit asymmetrischen Kohlenstoffatomen nicht alle die von der Theorie vorausgesehenen Modifikationen vorfindet."

„Wie aber die Bildung der Basen zeigt, hängt diese Auslese der stereoisomeren Modifikationen nicht von der Art dieser Modifikationen selbst ab, sondern vielmehr von den Reaktionsbedingungen und von den zum Aufbau gewählten Materialien, so daß man, wenn eine Modifikation bei einer bestimmten Reaktion ausgeschaltet wird, nicht sagen kann, die Modifikation sei nicht existenzfähig; vielmehr ist es möglich, sie unter anderen Bedingungen zu erhalten."

Die beiden angeführten Beispiele zeigen, daß es nicht etwa einem Gesetz entspricht, daß von den zwei denkbaren Racemverbindungen in allen Fällen die Bildung der Racemverbindung

$$\begin{pmatrix} +a, & -a \\ +b, & -b \end{pmatrix}$$

bevorzugt wird, sondern daß unter geeigneten Umständen auch die andere Racemverbindung

$$\begin{pmatrix} +a, & -a \\ -b, & +b \end{pmatrix}$$

der Hauptmenge nach gebildet werden kann.

b) Nachweis der Verschiedenheit in der Reaktionsgeschwindigkeit spiegelbildlicher Moleküle gegenüber einem asymmetrischen Molekül bei der Veresterung sowie der Verseifung und anderen Reaktionen.

Bei Reaktionen, die wie die Salzbildung den angewandten Mengen von Säure und Base entsprechend, gleich bis zu Ende verlaufen, kann eine Bevorzugung einer asymmetrischen Base gegenüber den Antipoden einer racemischen Säure erst dann in Erscheinung treten, wenn man, wie in dem Beispiel Cinchonin gegenüber dem racemischen Zimtsäuredibromid, mit einem Molekül der Racemsäure nur ein Molekül der Base in Reaktion bringt.

Anders jedoch bei allen Reaktionen, die mit abnehmender Reaktionsgeschwindigkeit nach Erreichung eines Maximums zum Stillstand kommen, wie z. B. bei der Esterbildung eines aktiven Alkohols mit einer Racemsäure.

Bei solchen Reaktionen muß sich durch Unterbrechung der Reaktion nachweisen lassen, daß der noch nicht in Reaktion getretene Teil der angewandten Racemsäure eine optische Aktivität aufweist, da auf Grund der asymmetrischen Wahlverwandtschaft die beiden Antipoden der Racemsäure eben nicht mit der gleichen Geschwindigkeit in Reaktion treten.

Das erste Beispiel dieser Art hat Marckwald[1]) untersucht. Er fand, daß bei der Veresterung von racemischer Mandelsäure mit l-Menthol die nach einer Stunde noch unverestert gebliebene Mandelsäure nach links dreht.

Bei Veresterung der nämlichen racemischen Mandelsäure mit dem unbekannten d-Menthol müßte natürlich rechtsdrehende Mandelsäure nachweisbar sein.

Umgekehrt stand zu erwarten, daß auch spiegelbildliche Ester bei der Verseifung durch ein asymmetrisches Molekül verschieden rasch zerlegt wurden, wodurch sich die dem Ester zugrunde liegende Säure bei der Unterbrechung der Reaktion in freier, optisch aktiver Form nachweisen lassen mußte.

Ein entsprechendes Beispiel dieser Art ist durch H. D. Dakin[2])

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **32**, 2130, 1899.

[2]) Journ. of Physiol. **30**, 253, 1904; **32**, 199, 1905.

bekannt geworden. Dieser fand, daß das Lipaseenzym spiegelbildliche Ester, wie z. B. den der Mandelsäure, mit verschiedener Geschwindigkeit verseift. Die verschiedene Geschwindigkeit ergibt sich daraus, daß bei der Unterbrechung der Reaktion vor der vollständigen Verseifung aktive Mandelsäure erhalten wurde, während die nach vollständiger Verseifung erhaltene Säure inaktiv war.

In scheinbarem Gegensatz zu diesem Resultat konnte Marckwald[1]) bei der Verseifung der spiegelbildlichen Weinsäureester durch das molekular asymmetrische Nicotin eine Verschiedenheit in der Reaktionsgeschwindigkeit nicht feststellen, ebensowenig wie sich bei der Einwirkung von 1 Mol Brucin auf 1 Mol der racemischen Mandelsäure eine Bevorzugung der einen Komponente der Mandelsäure nachweisen ließ.

Wie aber bereits betont wurde, muß man annehmen, daß in den Fällen, bei denen kein deutlicher Unterschied im Reaktionsvermögen zwischen der asymmetrischen Substanz und den beiden Antipoden nachweisbar ist, die den Unterschied bedingende Komponente $\pm w$, das ist die asymmetrische Wahlverwandtschaft Null bzw. fast Null ist, so daß für den Ausfall dieser speziellen Reaktionen lediglich die chemische Affinität der in Reaktion tretenden Moleküle ausschlaggebend ist.

Nachweis der Verschiedenheit in der asymmetrischen Wahlverwandtschaft und der dadurch bedingten Auslese bei katalytischen Reaktionen.

Ein ausgezeichnetes Beispiel auf diesem Gebiet verdanken wir der schönen Untersuchung von Bredig und Fajans[2]), denen es gelang, durch Anwendung des asymmetrischen Katalysators Nicotin den Nachweis zu liefern, daß von den spiegelbildlichen d- bzw. l-Camphocarbonsäuren das Rechtsmolekül sehr viel rascher als das Linksmolekül nach der Gleichung

$$C_{10}H_{15}O.CO_2H = C_{10}H_{16}O + CO_2$$

zerfällt.

Zum Unterschied von den Reaktionen asymmetrischer Moleküle, die eine ausgesprochene chemische Affinität zueinander

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **31**, 783, 1898.

[2]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **41**, 752, 1908.

besitzen, deren Wirkung sich mit der der asymmetrischen Wahlverwandtschaft vereinigt, die dann zusammen ausschlaggebend für den Ablauf der Reaktion sind, muß bei der Einwirkung eines asymmetrischen Katalysators auf spiegelbildliche Moleküle angenommen werden, daß die chemische Affinität des Katalysators zu den Antipoden nur gering ist, so daß der Ablauf der Reaktion ganz vorzugsweise durch die asymmetrische Wahlverwandtschaft zwischen Katalysator und den Antipoden bedingt wird.

Wirksamkeit der asymmetrischen Wahlverwandtschaft und Gültigkeit des Gesetzes von der gleichen aber entgegengesetzten Wirkung der von spiegelbildlichen Molekülen ausgehenden Kräfte bei biochemischen Reaktionen.

Aus den bisherigen Besprechungen ergibt sich, daß die von asymmetrischen Molekülen ausgehende Kraft nicht nur induzierend auf andere, dafür empfängliche Moleküle zu wirken imstande ist, sondern daß sie auch, analog einem magnetischen Nordpol, gegenüber dem Nord- bzw. Südpol eines anderen Magneten, anziehend oder abstoßend auf spiegelbildliche Moleküle wirkt und dadurch einen auslesenden Einfluß bei dem Gange der Reaktion auszuüben vermag, so daß nicht alle Kombinationen, sondern nur bestimmte gebildet werden.

Die durch diese Kraft bewirkte Auslese, die, wie die angeführten Beispiele zeigen, schon bei der Wechselwirkung relativ einfacher asymmetrischer Moleküle in Erscheinung tritt, muß naturgemäß auch dann in Erscheinung treten, wenn die auslesende Kraft von höhermolekularen asymmetrischen Molekülen ausgeht, und man wird nicht fehlgehen, wenn man alle Reaktionen bei asymmetrischen Molekülen, bei denen eine Auslese zugunsten eines Spiegelbildes zutage tritt, auf das nämliche Spiel der asymmetrischen Wahlverwandtschaft, wie es bei den vorher erwähnten Beispielen zu beobachten ist, zurückführt.

In der Biochemie sind nun seit langer Zeit eine große Reihe von Fällen bekannt geworden, bei denen eine bisher noch nicht erklärbare Auslese zwischen den Antipoden von Racemverbindungen stattfindet. Die erste Beobachtung dieser

Art wurde von Pasteur[1]) gemacht. Er fand, daß bei der Gärung von traubensaurem Ammoniak die Rechtsweinsäure von dem Gärungserreger angegriffen und verbraucht wird, während die Linksweinsäure unverändert bleibt.

Daß ihm die Tragweite dieser Beobachtung voll zum Bewußtsein gekommen ist, ergibt sich aus seinen Ausführungen, die er zu diesem Versuch gemacht hat.

„Gerade darauf glaube ich in diesem Augenblick Ihre Aufmerksamkeit lenken zu müssen, es schont die Hefe, die die Gärung des Rechtssalzes verursacht, das Linkssalz, trotz der absoluten Identität der physikalischen und chemischen Eigenschaften beider, solange man sie nicht asymmetrischen Einflüssen unterwirft."

„Hier haben wir also eine Einwirkung der der organischen Materie eigenen molekularen Asymmetrie auf einen physiologischen Vorgang, und zwar wirkt sie ein, indem sie die chemischen Affinitäten verändert. Es kann nicht im geringsten zweifelhaft sein, daß die einzige und ausschließliche Ursache des Unterschieds in der Erscheinung dieser Gärung der Rechtsweinsäure gegenüber, durch die molekulare Anordnung der Linksweinsäure hervorgerufen ist."

„Auf diese Art wird in die physiologischen Studien die Idee des Einflusses der molekularen Asymmetrie der natürlichen organischen Produkte eingeführt, dieses wichtigen Merkmals, das vielleicht die einzige, streng abgegrenzte Scheidewand bildet, die man heute zwischen der Chemie der toten und der lebenden Natur ziehen kann."

Seit diesem ersten grundlegenden Versuch Pasteurs sind eine sehr große Reihe der verschiedensten Racemverbindungen gegenüber sehr verschiedenen niedrigen Organismen untersucht worden.

Bei den meisten Versuchen zeigte es sich, daß die Organismen sich den spiegelbildlichen Komponenten der Racemverbindungen gegenüber verschieden verhalten, indem sie eine davon bei der Reaktion bevorzugen und dadurch zum Ver-

---

[1]) Ostwalds Klassiker 28; Pasteur, S. 33, 1861; Compt. rend. 46, 615, 1858.

schwinden bringen, so daß die andere Komponente unverändert, in aktiver Form in Erscheinung tritt.

Wie die weiteren Untersuchungen gelehrt haben, sind die besonderen Reaktionsweisen der niedrigen Organismen auf die Wirksamkeit in ihnen enthaltener sogenannter Enzyme zurückzuführen. Diese Enzyme stellen, wenn man auch ihre Konstitution noch nicht kennt, hochmolekulare Verbindungen vor, die, wie Landolt betont[1]), wie alle eiweißartigen Körper als asymmetrische, mit Drehungsvermögen begabte Moleküle anzusprechen sind.

Hierdurch werden die bisher so wunderbar erscheinenden biochemischen Reaktionen zwischen Racemverbindungen und niedrigen Organismen ihres rätselhaften Charakters entkleidet und zurückgeführt auf die im Voranstehenden dargelegten Grundgesetze der Wechselwirkung eines asymmetrischen Moleküls und zweier spiegelbildlicher Moleküle.

Ob überhaupt eine Einwirkung zwischen dem niedrigen Organismus bzw. dem darin wirksamen Enzym stattfindet, hängt von der chemischen Affinität zwischen Enzym und den spiegelbildlichen Molekülen ab. Welches der beiden spiegelbildlichen Moleküle zuerst angegriffen wird, hängt dagegen von der asymmetrischen Wahlverwandtschaft zwischen Enzym und den spiegelbildlichen Molekülen ab.

Die bei dem ersten Vorgang dieser Art von Pasteur bereits betonte Veränderung der chemischen Affinität wird allein bewirkt durch die von dem asymmetrisch gebauten, niedrigen Organismus bzw. dessen Enzym ausgehenden Kraft, die als asymmetrische Wahlverwandtschaft w zur Wirkung kommt.

Die oben gegebene Gleichung

$$G = a \pm w$$

besagt, daß die Gesamtaffinität zwischen asymmetrischem Molekül und den beiden Antipoden zu zerlegen ist in die bei beiden gleiche chemische Affinität und in einen positiven oder negativen Addenden, der auf die asymmetrische Wahlverwandtschaft zurückzuführen ist.

Je größer w wird, um so auffälliger wird die hierdurch bewirkte Auslese zugunsten des alleinigen Reagierens des einen

[1]) Landolt, Drehungsvermögen, 2. Aufl., S. 66.

Antipoden in Erscheinung treten, und es ist wahrscheinlich, daß w mit der Größe des asymmetrischen Moleküls steigt und mit dessen besonderer Zusammensetzung nach Atomen und deren asymmetrischer Lagerung wechselt.

Sollte bei einem bestimmten Falle die Größe a, das ist die chemische Affinität, gleich Null werden, so wird allein die Größe von w für die Wechselwirkung des niedrigen Organismus bzw. dessen Enzyms und der beiden Antipoden maßgebend sein, und zwar so, daß das Enzym mit dem einen Antipoden in eine molekulare Verbindung eintritt, während der andere Antipode unverändert bleibt.

Sollte endlich in einem bestimmten Falle a und w gleich Null sein, so ist der Eintritt irgendeiner Reaktion überhaupt nicht zu erwarten.

Das wichtigste Ergebnis dieser Betrachtung ist, daß der Ablauf der Reaktion zwischen einem asymmetrischen Molekül, sei es in freier Form oder im Verband mit einem niedrigen Organismus und zwei spiegelbildlichen Molekülen nicht an die Wirksamkeit einer einzigen Kraft, der chemischen Affinität, sondern daneben an die Wirksamkeit einer zweiten molekularen Kraft, der asymmetrischen Wahlverwandtschaft geknüpft ist, die von dem asymmetrischen Molekül ausgeht und den Eintritt der Reaktion zwischen dem asymmetrischen Molekül und dem einen der Antipoden bevorzugt und beschleunigt, so daß unter Umständen eine Reaktion mit dem anderen Antipoden gänzlich ausbleibt, so daß dieser Antipode in molekular asymmetrischer, optisch aktiver Form erhalten werden kann.

Die Bevorzugung des einen Antipoden und die Ausschaltung des anderen bei der Reaktion mit einem asymmetrischen Molekül ist damit auf das Spiel zweier Kräfte zurückgeführt, der chemischen Affinität und der asymmetrischen Wahlverwandtschaft.

Durch die Abhängigkeit der Reaktionen von zwei sich entweder verstärkenden oder schwächenden Kräfte ist es allein möglich, alle auf diesem Gebiet gemachten Erfahrungen zu erklären.

Die Tatsache, daß, wie schon Pfeffer[1]) sowie Pringsheim[2]) und Ehrlich[3]) nachgewiesen haben, die beiden spiegelbildlichen Antipoden mit verschiedener Reaktionsgeschwindigkeit hintereinander angegriffen werden können, wird nur verständlich, wenn die an sich gleiche, zwischen niedrigem Organismus und den Antipoden wirksame chemische Affinität durch die $\pm$ asymmetrische Wahlverwandtschaft entweder eine Vermehrung in Form einer Beschleunigung oder eine Verminderung in Form einer Verlangsamung erfahren kann.

In den Fällen, wo beide Antipoden gleichmäßig angegriffen werden, muß die Reaktion allein auf die Wirkung der chemischen Affinität zurückgeführt werden.

Die Reaktionen zwischen den Antipoden und den lebenden Organismen einerseits und den einfachen asymmetrischen Molekülen andererseits unterscheiden sich dadurch, daß bei ersteren auf den primären chemischen Angriff des einen Antipoden gleich weitere, tiefer eingreifende chemische Veränderungen folgen, durch die dann dieser eine Antipode als solcher verschwindet, während bei den Umsetzungen mit einfachen asymmetrischen Molekülen, wie sie vorher beschrieben wurden, sich Salze oder andere Verbindungen bilden, die unter den gegebenen Bedingungen einer weiteren Veränderung nicht mehr unterliegen.

Ob bei der Einwirkung von z. B. Cinchonin auf racemisches Zimtsäuredibromid sich neben dem Alkaloidsalz der einen Komponente des r-Dibromids, die andere Komponente des Dibromids in ihrer aktiven Form auftritt, oder ob bei der Einwirkung eines niedrigen Organismus auf eine Racemverbindung die eine Komponente zunächst angegriffen und dann verbraucht wird, während die andere Komponente in freier, aktiver Form auftritt, muß in beiden Fällen auf die von dem einfachen asymmetrischen Molekül oder dem im Organismus wirksamen asymmetrischen Molekül ausgehenden asymmetrischen Wahlverwandtschaft den beiden Antipoden gegenüber zurückgeführt werden, die den Eintritt einer Reaktion mit dem einen Antipoden begünstigt und sie dadurch beschleunigt, während die Reaktion als solche sich der chemischen Affinität entsprechend vollzieht.

---

[1]) Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik **28**, 205, 1895.

[2]) Zeitschr. f. physiol. Chem. **65**, 96, 1910.

[3]) Diese Zeitschr. **1**, 8, 1906.

Dem anderen Antipoden gegenüber besitzt die asymmetrische Wahlverwandtschaft ein negatives Vorzeichen, demzufolge die Reaktion diesem Antipoden gegenüber verzögert und in ihrem Ablauf verlangsamt wird, nicht aber folgt daraus, daß eine Reaktion mit diesem Antipoden überhaupt unmöglich ist.

Die Beobachtungen von Pfeffer[1]) bei der Einwirkung von Aspergillus niger und von Penicillium glaucum mit Traubensäure lassen deutlich erkennen, daß wenn auch die d-Weinsäure bevorzugt wird, stets doch auch, wenngleich in viel geringerer Menge, die l-Weinsäure angegriffen wird. Neuberg und Saneyoshi[2]) haben in Richtigstellung abweichender älterer Angaben gezeigt, daß im Tierkörper d- und l-Weinsäure gleich stark umgesetzt werden.

Gesetz von der gleichen, aber entgegengesetzten Wirkung der von spiegelbildlichen Molekülen ausgehenden Kräfte in der Biochemie.

Bezüglich der induzierenden Wirkung besagt das Gesetz:

Wenn die d-Phenylmilchsäure das ungesättigte Zimtsäuremolekül vorzugsweise in seiner d-Form einstellt, so muß die l-Phenylmilchsäure dasselbe Molekül unter gleichen Bedingungen in seine l-Form einstellen.

Wenn die d-Weinsäure das nämliche ungesättigte Zimtsäuremolekül vorzugsweise in seiner l-Form einstellt, so muß die l-Weinsäure dasselbe Molekül unter den gleichen Bedingungen in seiner d-Form einstellen.

Bezüglich der bevorzugenden und daher auslesenden Wirkung verlangt das Gesetz: Wenn bei der Salzbildung des rac. Zimtsäuredibromids z. B. mit einem Mol d-Cinchonin die Verbindung mit dem linksdrehenden Dibromid bevorzugt wird, so muß das unbekannte linksdrehende Cinchonin unter den gleichen Bedingungen das rechtsdrehende Dibromid bevorzugen. In ersterem Falle muß d-Dibromid, in letzterem l-Dibromid in ungebundener aktiver Form abscheidbar sein.

Da nun das Verhalten von Enzymen oder niedrigen Organismen gegenüber von Racemverbindungen gleicherweise auf die bevorzugende und dadurch auslesende Wirkung der in dieser enthaltenen asymmetrischen Moleküle zurückgeführt wer-

[1]) l. c.
[2]) Diese Zeitschr. 36, 32, 1911.

den muß, so daß einer der Antipoden der Racemverbindung durch vollständige Veränderung verschwindet, während der andere frei und in aktiver Form in Erscheinung tritt, so war es wichtig, zu untersuchen, ob es auch niedrige Organismen gibt, die der gleichen Racemverbindung gegenüber, den entgegengesetzten Antipoden, frei und in aktiver Form zur Erscheinung bringen als wie die bisher geprüften Organismen.

In der Tat hat Pfeffer unter den von ihm untersuchten Organismen eine Bacterienart, die er als Linksbacterium bezeichnet, aufgefunden, die in ausgezeichneter Weise der Traubensäure gegenüber die Linksweinsäure vorzugsweise angreift, so daß die d-Weinsäure frei und in aktiver Form in Erscheinung tritt.

Vorher hatte bereits Lewkowitsch[1]) durch Einwirkung eines noch nicht näher bestimmten Organismus auf traubensaures Ammonium gleichfalls d-Weinsäure erhalten.

Ebenso zeigte es sich, daß bei der Einwirkung bestimmter Pilze auf rac. Mandelsäure und rac. Glycerinsäure durch den einen Pilz die eine, durch den anderen Pilz die andere Komponente der beiden Säuren angegriffen wird, unter Freiwerden des Spiegelbildes.

Es liegt nun nahe, zu vermuten, daß nach dem Gesetz von der gleichen, aber entgegengesetzten Wirkung der von spiegelbildlichen Molekülen ausgehenden Kräfte den bei den genannten Racemverbindungen entgegengesetzte Wirkung hervorbringenden Pilzen spiegelbildliche Enzyme zugrunde liegen.

Diese durchaus berechtigt erscheinende Schlußfolgerung ist aber, abgesehen davon, daß sie sich zur Zeit noch nicht experimentell prüfen läßt, nicht die allein zulässige. Vielmehr muß damit gerechnet werden, daß nicht nur spiegelbildliche Enzyme, sondern auch solche Enzyme, die Reihen der entgegengesetzten Wirksamkeit angehören, die Ursache des entgegengesetzten Verhaltens der beiden niedrigen Organismen gegenüber der gleichen Racemverbindung sein können.

Auch der Umstand, daß bei dem Wachstum niedriger Organismen auf den Racemverbindungen von Amidosäuren vorwiegend die in der Natur vorkommende Komponente durch Schimmelpilze verzehrt wird und dadurch deren Spiegelbild er-

---

[1]) Ber. d. Deutsch. chem. Ges. **16**, 1542, 1883.

halten wird, läßt erkennen, daß in den Zellen der verschiedenen lebenden Organismen asymmetrische Moleküle in Gestalt von Enzymen enthalten sein müssen, die entweder Reihen entgegengesetzter Wirksamkeit angehören oder Spiegelbilder zueinander vorstellen.

Daß das entgegengesetzte Vorzeichen bei der Drehung asymmetrischer Moleküle nicht Hand in Hand geht mit dem entgegengesetzten Vorzeichen der von asymmetrischen Molekülen ausgehenden Kraft, ergibt sich auch aus den von Landolt in seinem Buche über das optische Drehungsvermögen, S. 64, zusammengestellten Beispielen.

Es ist dort gezeigt, daß bei Einwirkung des gleichen Pilzes Penicillium glaucum auf die Racemverbindungen von 14 verschiedenen Körperklassen angehörenden Substanzen in 6 Fällen die rechtsdrehende, in 8 Fällen die linksdrehende Komponente gewonnen wird und danach die entgegengesetzte Komponente beim Angriff durch den Pilz bevorzugt wird.

Wenn das Vorzeichen bei der asymmetrischen Wahlverwandtschaft mit dem Vorzeichen der Drehungsrichtung übereinstimmen würde, so müßte bei allen 14 Fällen die nach der gleichen Richtung drehende Komponente bevorzugt werden, da man bei Verwendung desselben Pilzes nur mit der Wirksamkeit einer identischen asymmetrischen Substanz in diesem rechnen kann, die naturgemäß bei allen Racemverbindungen diejenige Komponente bevorzugt, die mit ihr in asymmetrischem Gegensatz steht. In asymmetrischem Gegensatz stehende asymmetrische Moleküle verschiedener Zusammensetzung können aber, wie schon betont wurde, sowohl nach der gleichen als nach der entgegengesetzten Richtung drehen.

Die bisher bekannt gewordenen physiologischen Unterschiede zwischen spiegelbildlichen Molekülen in bezug auf Geschmack und Giftigkeit lassen sich ebenfalls nur mit Hilfe der verschiedenen asymmetrischen Wahlverwandtschaft und unter Zugrundelegung des Gesetzes von der gleichen aber entgegengesetzten Wirkung der von spiegelbildlichen Molekülen ausgehenden Kräfte verstehen.

Eine der auffälligsten Verschiedenheiten im Geschmack wurde bei den spiegelbildlichen Asparaginen festgestellt. Es zeigte sich, daß das rechtsdrehende Asparagin einen ausge-

sprochen süßen Geschmack besitzt, während das linksdrehende Asparagin fade schmeckt. Pasteur[1]) erklärte diese Geschmacksverschiedenheit bereits durch die Annahme, daß die Geschmacksnerven selbst aus asymmetrischer Substanz bestehen.

Es handelt sich dann, genau wie bei den in niedrigen Organismen enthaltenen asymmetrischen Enzymen, um die Wechselwirkung einer asymmetrischen Substanz und zweier spiegelbildlicher Moleküle, von denen das eine durch die asymmetrische Wahlverwandtschaft bevorzugt und dadurch zur Wirkung kommt, während das andere abgelehnt wird.

Nach dem Gesetz von der gleichen, aber entgegengesetzten Wirkung der von spiegelbildlichen Molekülen ausgehenden Kräfte folgt dann, daß, wenn man sich einen Menschen vorstellt, der in seinen Geschmacksnerven das Spiegelbild der beim normalen Menschen vorhandenen asymmetrischen Substanz enthält, dieser das dem normalen Menschen süß schmeckende Asparagin fade, das fade schmeckende Asparagin dagegen süß schmecken würde. In der nämlichen Weise muß auch die verschiedene Giftigkeit bestimmter spiegelbildlicher Substanzen erklärt werden.

Man sieht daraus, von welcher Wichtigkeit die von asymmetrischen Molekülen ausgehende Kraft für die Beurteilung der im gesunden und kranken Organismus sich abspielenden Reaktionen ist.

Aus den voranstehenden Betrachtungen ergibt sich, daß die sogenannte biochemische Trennungsmethode von Racemverbindungen, ebenso wie die Trennung einer Racemsäure durch ein Molekül Base, auf die durch die asymmetrische Wahlverwandtschaft bedingte verschiedene Reaktionsgeschwindigkeit eines asymmetrischen Moleküls gegenüber von zwei spiegelbildlichen Molekülen zurückgeführt werden muß, so daß ein prinzipieller Unterschied zwischen beiden Methoden nicht besteht.

Man hat danach die folgenden Trennungsmethoden spiegelbildlicher Moleküle in die optisch aktiven Komponenten zu unterscheiden.

---

[1]) Compt. rend. **105**, 158.

Trennungsmethoden spiegelbildlicher Moleküle in die entgegengesetzt drehenden Komponenten.

1. Methode durch Auslesen der Krystalle nach ihrer Hemiedrie.

Pasteur und van't Hoff haben übereinstimmend festgestellt, daß spiegelbildliche Moleküle in allen chemischen und physikalischen Eigenschaften bis auf die Hemiedrie der Krystalle und das Drehungsvermögen ihrer Lösungen miteinander identisch sind.

Jegliche Methode einer Trennung setzt aber das Vorhandensein einer wahrnehmbaren Verschiedenheit der zu trennenden Moleküle voraus.

Nach Entdeckung rechts- und linkshemiedrischer Krystalle bei der Ausscheidung des traubensauren Ammoniaknatriumsalzes aus wäßriger Lösung hat Pasteur diese Verschiedenheit zur Grundlage seiner ersten Trennungsmethode spiegelbildlicher Moleküle gewählt, indem er die entgegengesetzt hemiedrischen Krystalle durch mechanisches Auslesen voneinander trennte und aus dem rechtshemiedrischen Salz die bekannte d-Weinsäure aus dem linkshemiedrischen Salz dagegen die bis dahin noch unbekannte Linksweinsäure gewann.

Diese Methode scheint aber nur bei solchen spiegelbildlichen Verbindungen anwendbar zu sein, die bei der Ausscheidung aus einem Lösungsmittel keine selbständige Racemverbindung zu bilden vermögen.

Da sich aber die Mehrzahl der spiegelbildlichen Verbindungen zu besonderen, durch die asymmetrische Wahlverwandtschaft zusammengehaltenen Racemverbindungen vereinigen, so müssen für deren Trennung andere Methoden angewandt werden.

2. Methode der Trennung spiegelbildlicher Moleküle durch Störung der Spiegelbildlichkeit bei der Verbindung der spiegelbildlichen Moleküle mit ein und demselben asymmetrischen Molekül.

Da spiegelbildliche Moleküle in ihren chemischen und physikalischen Eigenschaften identisch sind, so kann eine Trennung nach verschiedenen Eigenschaften erst möglich

werden, wenn die Ursache ihrer Identität, nämlich die Spiegelbildlichkeit aufgehoben wird.

Es ist nun ohne weiteres einleuchtend, daß durch Verbindung spiegelbildlicher Moleküle mit dem nämlichen symmetrischen Molekül wieder spiegelbildliche und daher identische Moleküle entstehen. Anders jedoch, wenn man die spiegelbildlichen Moleküle jedes für sich mit ein und demselben asymmetrischen Molekül verbindet.

Bezeichnet man die spiegelbildlichen Moleküle mit $+A$ und $-A$ und das asymmetrische Molekül mit $+B$, so müssen die zu erwartenden Verbindungen

$$\begin{pmatrix}+A\\+B\end{pmatrix} \text{ und } \begin{pmatrix}-A\\+B\end{pmatrix},$$

die, wenn auch asymmetrisch, aber nicht mehr spiegelbildlich sind, voneinander verschieden sein und sich nach der Verschiedenheit in ihren Eigenschaften z. B. der Löslichkeit trennen lassen.

Durch Zerlegung der voneinander getrennten Verbindungen in $+A$ und $+B$ bzw. in $-A$ und $+B$ und Entfernung von $+B$ erhält man dann die beiden Antipoden $+A$ und $-A$ in optischaktiver Form.

Diese zweite gleichfalls von Pasteur aufgefundene Methode läßt sich bei allen Racemverbindungen anwenden, die imstande sind, mit einem asymmetrischen Molekül in eine leicht wieder zerlegbare Verbindung zu treten, so besonders bei der Salzbildung racemischer Säuren mit einem Alkaloid, bei der Salzbildung einer racemischen Base mit einer optischaktiven Säure, aber auch bei der Esterbildung oder der Bildung sogenannter Schiffscher Basen aus Aldehyden und primären Aminen ließen sich Trennungen nach dieser zweiten Methode durchführen.

3. Methode. Trennung nach der verschiedenen Reaktionsgeschwindigkeit einer asymmetrischen Verbindung gegenüber spiegelbildlichen Molekülen auf Grund der asymmetrischen Wahlverwandtschaft.

a) Bei der Salzbildung.

Beispiele: rac. Zimtsäuredibromid mit 1 Mol. Cinchonin oder Strychnin. Neben neutralem Alkaloidsalz unverbundenes aktives Zimtsäuredibromid. Wie der Versuch mit Mandelsäure

lehrt, ist die Methode nicht bei allen Racemsäuren zu verwenden.

b) bei der Esterbildung.

Beispiel: Mentholin und Mandelsäure. Die Veresterung der einen Mandelsäure geht rascher als die der spiegelbildlichen.

c) Bei der Umsetzunng der Racemverbindungen mit höher molekularen asymmetrischen Verbindungen. Hierher gehören alle biochemischen Trennungen, sei es durch Enzyme oder durch niedrige Pilze und Bakterien.

4. Methode. Trennung von spiegelbildlichen Molekülen nach Störung der Spiegelbildlichkeit durch Erhitzen der Antipodenlösung, wobei die spiegelbildlichen Moleküle durch Drehung im gleichen Sinne in eigenschaftsverschiedene, relativisomere Konfigurationen übergehen, die sich nach ihrer verschiedenen Löslichkeit hintereinander ausscheiden.

Beispiele: Trennung von d, l-Asparagin und von d, l-weinsaurem Ammoniaknatriumsalz (Erlenmeyer).

Diese Methode ist die einzige, die uns Aufschluß gibt über den Ursprung optischaktiver Verbindungen in der lebenden Zelle[1]).

Ihre Anwendbarkeit scheint auch auf die d, l-Moleküle beschränkt, die keine eigene Racemverbindung bilden.

Ob außer diesen vier Trennungsmethoden in Zukunft noch andere aufzufinden sein werden, muß der weiteren Forschung vorbehalten bleiben.

Den besprochenen vier Trennungsmethoden liegen die drei folgenden Prinzipien zugrunde.

1. Die entgegengesetzte Hemiedrie der Krystalle.

2. Die verschiedene Reaktionsgeschwindigkeit auf Grund der asymmetrischen Wahlverwandtschaft zwischen einem asymmetrischen Molekül und zwei spiegelbildlichen Molekülen.

3. Störung der Spiegelbildlichkeit und die dadurch bedingte Eigenschaftsverschiedenheit.

---

[1]) Diese Zeitschr. 52, 440, 1913.

Schluß.

Die bisher besprochenen Beobachtungen haben gelehrt, daß zwischen der von asymmetrischen Molekülen ausgehenden Kraft und der magnetischen Energieform eine weitgehende Ähnlichkeit besteht. Beiden Energieformen ist gemeinsam eine induzierende und eine auf Anziehung und Abstoßung beruhende auslesende Wirkung.

Die weitere Vergleichung beider Kräfte hat mich noch auf eine weitere Ähnlichkeit geführt, die volle Beachtung verdient und vielleicht einem tieferen Eindringen in das Wesen beider Kräfte den Weg öffnet.

Der permanente Magnetismus tritt uns bei dem natürlich vorkommenden Magneteisen entgegen.

Durch die Feststellung der Tatsache, daß durch Kreisen eines elektrischen Stromes um einen weichen Eisenkern dieser magnetisch wird, war ein Zusammenhang gefunden zwischen der magnetischen und der elektrischen Energieform. Der auf diese Weise durch den elektrischen Strom erzeugte Magnetismus unterscheidet sich allerdings von dem des natürlichen Magneteisens dadurch, daß er nach dem Aufhören des elektrischen Stromes alsbald wieder verschwindet und deshalb zum Unterschied von ersterem als temporärer Magnetismus bezeichnet wird.

Schon Anfang der 90er Jahre des vergangenen Jahrhunderts hat Richartz[1]) die Hypothese aufgestellt, daß der Magnetismus durch kreisende Elementarladungen erzeugt wird und diese Vorstellung durch Rechnung gestützt.

Neuerdings stellten sich auch Einstein und de Haas auf den Standpunkt, daß der Para- und der Ferromagnetismus von kreisenden Elektronen erzeugt wird.

Das optische Drehungsvermögen in inaktiven Flüssigkeiten gelöster Stoffe muß, wie Pasteur zuerst nachgewiesen hat, auf die räumliche Asymmetrie der in Lösung befindlichen Moleküle zurückgeführt werden, so daß also allgemein Lösungen molekular asymmetrischer Verbindungen die Erscheinung des optischen Drehungsvermögens zeigen müssen.

---

[1]) Wiedemanns Ann. 52, 410, 1894.

Die räumliche Asymmetrie eines Moleküls läßt sich in allen Fällen auf eine schraubenförmige Anordnung der in dem Molekül enthaltenen Atome bzw. Radikale zurückführen, auch beim asymmetrischen Kohlenstoffatom liegen die vier Substituenten auf einer Schraubenlinie.

Bei optisch inaktiven Flüssigkeiten läßt sich aber auch künstlich optisches Drehungsvermögen erzeugen, wenn man die Flüssigkeitssäule von einem elektrischen Strom umkreisen läßt, ähnlich wie bei der Erzeugung eines Elektromagneten.

Ebenso wie nach dem Aufhören des elektrischen Stromes der erworbene, temporäre Magnetismus alsbald wieder verschwindet, verschwindet auch das durch den Strom bewirkte Drehungsvermögen wieder nach Unterbrechung des Stromes.

Man kann daher dieses bei inaktiven Flüssigkeiten künstlich hervorgebrachte Drehungsvermögen als temporäres Drehungsvermögen bezeichnen zum Unterschied von dem durch die in Lösung befindlichen asymmetrischen Moleküle bewirkten permanenten, optischen Drehungsvermögen.

Auf Grund dieser Beziehungen zwischen optischem Drehungsvermögen und dem Magnetismus erscheint es naheliegend anzunehmen, daß auch das optische Drehungsvermögen durch kreisende Elektronen bewirkt wird[1]).

Als Ursache des Drehungsvermögens müßte man den Durchgang des polarisierten Lichtstrahls durch die auf einer schraubenförmigen Bahn sich bewegenden Elektronen betrachten.

Bei dem temporären Drehungsvermögen muß der die inaktive Flüssigkeit umkreisende elektrische Strom die Ursache für den Eintritt der kreisenden Elektronenbewegung sein. Bei dem permanenten Drehungsvermögen der Lösungen molekular-asymmetrischer Substanzen muß die kreisende Elektronenbewegung verursacht sein durch die stabile schraubenförmige Anordnung der Atome in dem asymmetrischen Molekül.

In ähnlicher Weise müßte dann auch die kreisende Elektronenbewegung bei permanenten Magneten von einer dauernden schraubenförmigen Anordnung der Teilchen des Magneten

---

[1]) Born, Elektronentheorie des natürlichen optischen Drehungsvermögens. Annal. d. Physik 4, 55, 177.

abhängig sein, die bei dem temporären Magneten durch das Umkreisen des elektrischen Stroms offenbar nur vorübergehend erreicht werden kann.

Es erscheint sehr wohl möglich, daß die anziehende bzw. abstoßende Wirkung ungleichnamiger bzw. gleichnamiger Pole durch die in gleichem bzw. entgegengesetztem Sinne sich vollziehende kreisende Elektronenbewegung bedingt wird [1]).

Während bei den in Lösung aktiven Substanzen das Drehungsvermögen auf eine durch die schraubenförmige Anordnung der Atome im Molekül bewirkte gleichfalls schraubenförmige Elektronenbahn zurückzuführen ist, so hat man anzunehmen, daß bei den nur in Krystallform mit optischem Drehungsvermögen begabten Substanzen eine schraubenförmige Anordnung der Krystallmoleküle für die schraubenförmige Elektronenbahn und die davon abhängige optische Aktivität maßgebend ist.

Wie bekannt, gelingt es, durch schraubenförmiges Aufeinanderschichten von Glimmerplatten künstlich ein den optisch aktiven Krystallen an die Seite zu stellendes Medium zu erzeugen, das entsprechend dem Sinne der schraubenförmigen Aufeinanderschichtung den polarisierten Lichtstrahl dreht.

Die künstliche Herstellung eines solchen optisch aktiven festen Mediums läßt sich in gewisser Beziehung mit der Einstellung hierzu geeigneter gesättigter oder ungesättigter Moleküle durch Induktion in molekular asymmetrischer und daher optisch aktiver Konfiguration vergleichen.

Von einem weiteren Eingehen auf noch speziellere theoretische Fragen ist zur Zeit noch Abstand zu nehmen.

Das überaus wichtige tatsächliche Ergebnis der voran-

---

[1]) Daß bei asymmetrischen Molekülen nur ein Pol, z. B. bei der Auslese, zur Wirkung kommt, dürfte damit zusammenhängen, daß die Wirksamkeit der von asymmetrischen Molekülen ausgehenden, dem Magnetismus ähnlich wirkenden molekularen Kraft abhängig ist von der gleichzeitigen chemischen Wirksamkeit einer an bestimmter Stelle des Moleküls vorhandenen Gruppe. Ähnlich wie bei einem Stahlmagnet, dessen einer Pol durch einen Farbenüberzug unwirksam gemacht ist, kann das asymmetrische Molekül nur mit dem einen Pol, der eine bestimmte chemische Gruppe enthält, zur Wirkung kommen.

stehend besprochenen Versuche ist die Erkenntnis, daß von asymmetrischen Molekülen eine der magnetischen Energieform zu vergleichende Kraft ausgeht, die einerseits induzierend, andererseits durch Anziehung bzw. Abstoßung auslesend wirkt.

Es handelt sich hier um einen ganz neuen Teil der organischen Chemie, den man als die Chemie der asymmetrischen Verbindungen bezeichnen muß.

In diesem Teil der Chemie muß außer der induzierenden Wirkung besonders der auslesenden Wirkung asymmetrischer Moleküle gegenüber spiegelbildlichen Molekülen eine besondere Aufmerksamkeit gewidmet werden.

Bei der Chemie der symmetrischen Substanzen ist das Resultat der Reaktion ganz allein abhängig von der chemischen Affinität der reagierenden Moleküle, während bei den Reaktionen asymmetrischer Moleküle die chemische Affinität weitgehend beeinflußt und verändert wird durch die von den asymmetrischen Molekülen aufeinander ausgeübten Kräfte, die als positive oder negative Wahlverwandtschaft die chemische Reaktion entweder zu beschleunigen oder ihr entgegenzuarbeiten bestrebt ist.

Nicht nur bei den enzymatischen Reaktionen spielt die asymmetrische Wahlverwandtschaft eine ausschlaggebende Rolle, sondern auch die Giftigkeit asymmetrischer Stoffe, die Wirksamkeit der mit so großen Nutzen angewandten Heilsera, überhaupt das Wechselspiel von Toxinen und Antitoxinen muß von den besprochenen molekularen Kräften weitgehend beeinflußt werden, da bei all diesen Reaktionen asymmetrische Moleküle aufeinander wirken.

Auch für die zur Zeit so sehr im Vordergrund des Interesses stehende Vererbungslehre scheint die Lehre von der asymmetrischen Wahlverwandtschaft geeignet zu sein, zu neuen Gesichtspunkten zu führen.

Die von mir auf diesem hochinteressanten schwierigen Gebiete ausgeführten Untersuchungen stellen gewissermaßen die Fortsetzung der genialen Untersuchungen Pasteurs[1]) dar.

Die bezüglich der relativen Isomerie, der asymmetrischen Synthese und der Induktion besonders bei ungesättigten Ver-

---

[1]) Ostwalds Klassiker 28, 1860.

bindungen, wie der Zimtsäure, erhaltenen Resultate beweisen, wie richtig die von Biot[1]) schon vor etwa 100 Jahren geäußerte, doch bisher kaum beherzigte Meinung ist, daß das Studium des Rotationsvermögens eines der sichersten Mittel biete, in die Erforschung der Molekularkonstitution der Körper tiefer einzudringen.

---

[1]) l. c. S. 15.

Zur Frage der praktischen Bedeutung des Nährwertbegriffes nebst einigen Bemerkungen über das Fettminimum des menschlichen Säuglings.

Von

Franz von Gröer.

(Aus der Universitäts-Kinderklinik in Wien.)

(Eingegangen am 13. Mai 1919.)

Der imposante Aufschwung der Stoff- und Kraftwechselforschung schien mit dem Anfang des fließenden Jahrhunderts die fundamentale Entwicklungsstufe erreicht zu haben. Die seit Liebig erfaßte Erkenntnis chemischer Zusammensetzung unserer Nahrung, die durch die gewaltige Arbeit zahlloser Forscher unser Verständnis der feinsten stofflichen Vorgänge im Organismus so wundervoll vertieft hat, wurde mit den bedeutsamen Entdeckungen der Münchner Schule, die uns die seit Lavoisier schlummernde energetische Auffassungsweise der Lebenserscheinungen offenbarten, durch den genialen Fleiß Max Rubners zu dem festen Gefüge quantitativer Ernährungslehre zusammengeschmiedet.

Die Tragweite des Rubnerschen Lebenswerkes bestand in der Präzisierung eines meßbaren Nährwertbegriffes, sowie in der Aufstellung des Gesetzes von der isodynamen Vertretungsweise der Energieträger der Nahrung.

Diese zwei wichtigen Errungenschaften ermöglichten erst die quantitative Beurteilung der Ernährungsprobleme und dadurch die praktische Ausnützung der theoretischen Forschungsergebnisse. Die Möglichkeit einer messenden und dosierenden Ernährungslehre eröffnete ungeahnte Gebiete therapeutischen und prophylaktischen Eingreifens, wodurch der Medizin, der

Hygiene und nicht zuletzt der Volkswirtschaft neue, nicht minder Erfolg verheißende Entwicklungsbahnen, als die durch die biologisch-bakteriologische Forschung erschlossenen zur Verfügung gestellt wurden.

Obgleich nun die Bedeutung dieses Fortschrittes alsbald und gerade von einigen führenden Geistern unserer Wissenschaft in ihrer ganzen Ausdehnung erkannt worden ist (vgl. z. B. E. v. Leyden) und auf ihrem Boden in den letzten Jahrzehnten unermeßliche theoretische Arbeit zur Erforschung des Stoffwechsels geleistet wurde, konnte die quantitative Ernährungslehre bis in die neueste Zeit nur eine äußerst bescheidene Ausdehnung erreichen und vermochte nicht in die breiteren Volksmassen als eine kulturelle Errungenschaft ersten Ranges einzudringen.

Diese Tatsache, die quantitativ denkenden Ärzten mit allen ihren bedauernswerten Folgen tagtäglich entgegentritt und auch schon unzählige Male beklagt worden ist, ist auf komplexe Ursachen zurückzuführen. Nicht zuletzt ist daran eine gewisse Scheu der großen Mehrzahl der Mediziner vor quantitativer Denkweise, namentlich wenn es sich um Lebensvorgänge handelt, schuld, noch mehr aber die älteren, tief im Volksglauben und in der Medizin eingewurzelten Vorstellungen über die qualitative Ungleichwertigkeit der Nährstoffe. Das Isodynamieprinzip, obgleich theoretisch so gut wie allseitig anerkannt, vermochte nicht durch das mystische Labyrinth qualitativer Vorurteile sich in der Praxis Bahn zu brechen[1]).

Vor allen Dingen haben aber gewichtige praktische Fehler der bisherigen quantitativen Ernährungslehre ihre verhältnismäßig geringe Allgemeinverbreitung auf dem Gewissen. Diese sind: Mangel eines individuellen, leicht und einfach anwendbaren und dennoch hinreichend genauen und vom Körpergewicht praktisch unabhängigen Kriteriums des Nahrungs-

---

[1]) Neuerdings wird von pädiatrischer Seite unverhohlen behauptet, daß „für die Pädiatrie die Isodynamie rein akademisches Interesse habe". (Klotz in „Diät und Diätotherapie" von Ewald-Klotz, Berlin-Wien, 1915, S. 179. Die Lektüre der Klotzschen Ausführungen in diesem gerade in Kreisen der praktischen Ärzteschaft recht verbreiteten Buche sei jedermann zur Orientierung über die Verworrenheit „moderner" Diätotherapie dringendst empfohlen.)

bedarfes und auch die rein energetische und daher für die Allgemeinheit zu abstrakte Fassung des quantitativen Nährwertmaßstabes.

Diese beiden Mängel sind nun durch das von v. Pirquet ersonnene und ausgearbeitete System der Ernährung behoben worden[1]). Die Grundlage des Pirquetschen Systems bildet nicht, wie das fälschlich behauptet wird, die Einführung des Milchnährwertes anstatt des Calorienwertes, sondern der Gedanke, das wichtigste lineare, vom Körpergewicht nur theoretisch abhängige und daher direkt ablesbare Maß des Körpers: die wahre Körperlänge („Sitzhöhe") als Basis zur Berechnung einer ideellen „Ernährungsfläche" anzuwenden und ferner die Benützung der Aufnahme der verbrennungsfähigen Substanzen in der Nahrung als Ausgangspunktes zur empirischen Feststellung des Bedarfes in bezug auf diese Ernährungsfläche. Erst in zweiter Linie kommt die Bedeutung des neuen Maßstabes des Nährwertes in Betracht. Das Pirquetsche System kann genau so gut mit Calorien wie mit Nemwerten[2]) rechnen. Allerdings ist das letztere viel einfacher, die Einführung des Nembegriffes hat neben der tieferen theoretischen Bedeutung, auf die ich weiter unten noch eingehen werde, vor allem den rein praktischen Vorteil, daß sie dem nicht energetisch geschulten Arzte, ja jedem Laien erlaubt, den rein energetischen Begriff des Brennwertes mit einer stofflichen Vorstellung zu verknüpfen und dadurch der Bewertung der Nahrungsstoffe einen auch materiellen Inhalt zu verleihen. Die Nemwerte sind daher viel leichter zu erlernen als die Calorienwerte.

Seit 1897[3]) bis zu dem Erscheinen des von Pirquetschen „Systems der Ernährung" ist für die angewandte quantitative Ernährungslehre nur Detailarbeit geleistet und nichts prinzipiell Neues geschaffen worden. Im Gegenteil, die eingangs erwähnten Bände, die die praktische Medizin stets an die Lehre von der Bedeutung der qualitativen Beurteilung der Nährstoffe fesselten, gewannen allmählich durch eine Reihe wichtiger Beobachtungen immer mehr an Stärke und drohen in der letzten Zeit, sie gänzlich von der quantitativen Betrachtungsweise der Ernährung abzuwenden. Daneben tauchten ernste theoretische Bedenken gegen die prinzipielle Anwendbarkeit der Calorie als Maßstabes der physiologischen Energieentfaltung auf. Beide Faktoren sind scheinbar geeignet, die wichtigsten Grundlagen

[1]) Verlag Springer, Berlin 1917.

[2]) Ein Nem ist der Nährwert eines Grammes idealer Frauenmilch.

[3]) Jahr des Erscheinens der ersten Auflage des Leydenschen Handbuches der Ernährungstherapie.

des mit solchem Aufwand an Geist und Arbeit zusammengemauerten Gebäudes der quantitativen Ernährungslehre umzustürzen, und in der Tat erheben sich in der allerletzten Zeit mahnende Stimmen, die den Anschein erwecken könnten, als ob es an der Zeit wäre, mit der allzu „schematischen“ Calorienlehre aufzuräumen und den alten Nährwertbegriff, der in erster Linie den „Brennwert“ (jedoch daneben auch den „Bauwert“) der Nahrung umfaßte, durch einen neuen, wenigstens ebenbürtigen Begriff des „Sondernährwertes“ zu ergänzen oder gar zu ersetzen[1]).

Bei der erheblichen Bedeutung, die die quantitative Ernährungslehre für die angewandte Medizin und das Volkswohl besitzt, ist es dringend geboten, die möglichen Einwürfe gegen die Grundlagen des quantitativen Nährwertbegriffes näher zu untersuchen.

Was zunächst die prinzipielle Zulässigkeit der Calorie, die ja sowohl von der alten, als vorläufig auch von der neuen Ernährungslehre als Grundlage benützt wird, als Maßeinheit zur Beurteilung der Nährwerte anbelangt, so können wir uns ziemlich kurz fassen, da diese Frage bereits als erledigt — und zwar in dem für uns günstigen Sinne — betrachtet werden kann. Es sei dennoch mit einigen Worten auf dieses Problem auch hier eingegangen, da es vielen, nicht speziell auf dem Gebiete theoretischer Ernährungslehre Arbeitenden, noch nicht ganz geläufig sein dürfte, und auch deshalb, weil die theoretische Unzulässigkeit der Calorie für unsere Fragen mit Berufung auf Höber, ohne weiteren Kommentar auch von Aron ins Feld geführt wird.

Höber[2]) hat, wenn wir den ersten Versuch Birchher-Benners[3]) außer acht lassen, als Erster klar und deutlich darauf hingewiesen, daß der tierische Organismus nicht als thermodynamische, sondern als chemodynamische Maschine aufzufassen ist und daß daher als theoretischer Ausdruck des Nährwertes nicht die gesamte Energie, sondern nur die

---

[1]) H. Aron, diese Zeitschr. 92, 211 bis 233, 1918.

[2]) Physikalische Chemie der Zelle und Gewebe. Leipzig, Verlag Engelmann 1911, 3. Aufl. Vgl. auch diese Zeitschr. 82, 68 bis 71, 1918.

[3]) Grundzüge der Ernährungstherapie usw. Berlin, Verlag Salle, 1906, 2. Aufl.

nach dem zweiten Hauptsatz, bei der Umwandlung der Nährstoffe zur Disposition gestellte, maximale freie Energie benützt werden kann. Freilich kam er aber zu dem Schlusse, daß derartige Fassung des Nährwertbegriffes gar keinen Fortschritt bedeuten würde, nicht nur deshalb, weil die freie Energie der Stoffwechselreaktionen kaum der Messung zugänglich gemacht werden könnte, sondern auch weil die arbeitsleistenden Systeme des Organismus irreversibel funktionieren. In allerletzter Zeit hat nun Oppenheimer[1]) die ganze Frage nochmals und unabhängig von Höber in einem äußerst anregenden und lehrreichen Aufsatz einer eingehenden Prüfung unterworfen und dabei gezeigt, daß wir „ruhig an dem gewohnten Maßstab der Calorienrechnung festhalten können, da eine deutliche Verschiedenheit zwischen der Wärmetönung und der maximalen Arbeit bei den zu Arbeitszwecken dienenden Nährstoffen nicht nachweisbar ist". Die praktische Gültigkeit des Berthelotschen Prinzips für die physiologischen Oxydationsvorgänge ist übrigens von Báron und Polányi[2]) im Tanglschen Institute unter Zuhilfenahme des dritten Hauptsatzes[3]) direkt nachgewiesen worden.

Die Erkenntnis, daß die Wärmeeinheit auch vom Standpunkt exakt theoretischer Überlegung als praktisch hinreichend zuverlässiger Maßstab des Brennwertes der Nahrung zu betrachten ist, und zwar auch dann, wenn es sich um Beurteilung der Arbeitsleistungen des Organismus handelt, kann uns nur lebhaft befriedigen, denn sonst müßten wir — vorläufig wenigstens — auf jeden Versuch quantitativer Betrachtungsweise der Ernährungsvorgänge völlig verzichten.

Dagegen lassen sich die Bedenken, die der qualitativen Ungleichwertigkeit äquicalorischer Nahrungsmittel in bezug auf die Zulässigkeit des Isodynamieprinzips und somit der gesamten quantitativen Ernährungslehre entspringen, nicht so leicht aus der Welt schaffen. Die Lehre von den sogenannten Ergänzungsstoffen, bzw. akzessorischen Nährstoffen und Vitaminen[4])

---

[1]) Diese Zeitschr. 79, 302 bis 330, 1917.

[2]) Diese Zeitschr. 53, 1, 1913.

[3]) Nernst, Theoretische Chemie 731, 1913. Stuttgart, Verlag Enke, 7. Aufl.

[4]) Literatur darüber bei C. Funk, Vitamine, Wiesbaden 1914. F. Röhmann, Künstliche Ernährung und Vitamine, Berlin 1916.

hat bereits eine Flut von Beobachtungen ans Licht gefördert, die jeden denkenden Arzt außerordentlich interessieren. Sie zeigen, daß unsere Nahrungsmittel unabhängig von ihrem Brennwerte eine Reihe von Eigenschaften besitzen müssen, um ihrer Rolle im Stoffwechsel vollauf entsprechen zu können. Diese Eigenschaften sind aber — soweit ich das vorhandene Tatsachenmaterial überblicken kann — nicht nur keiner quantitativen Fassung zugänglich, sondern sogar in ihrem Wesen noch völlig ungeklärt. Höchstwahrscheinlich handelt es sich in erster Linie ganz allgemein darum, daß gewisse Atomkomplexe, die sowohl für den Aufbau der lebendigen Substanz als für den Ablauf und die Leitung intermediärer Stoffwechselprozesse unentbehrlich sind, im Organismus gegebenenfalls nicht synthetisch dargestellt werden können und daher in der Nahrung präformiert sein müssen. Diese Auffassung nähert sich derjenigen meines früheren Lehrers Röhmann, der sie aber nur auf Bausteine des Eiweißmoleküls anwendete. Tatsächlich sind wir nur auf diesem Gebiete über gewisse Insuffizienz der synthetischen Fähigkeiten des tierischen Organismus positiv unterrichtet, nachdem uns zahlreiche Untersuchungen die Notwendigkeit der Anwesenheit mancher Aminosäuren, die nicht in jedem Eiweißmolekül enthalten sein brauchen, in der Nahrung zur Evidenz demonstriert haben. Die Wahrscheinlichkeit, daß der tierische Organismus die zyklischen Gruppen im allgemeinen nicht zu bilden vermag, daß er sich also — um den Ausdruck von W. A. Osborne zu gebrauchen — „azyklopoietisch“ verhält, eröffnet aber analoger Denkrichtung weitere Ausblicke.

Dennoch sind wir über die ergänzenden Eigenschaften der beiden anderen chemischen Gruppeneinheiten unserer Nahrung: Kohlenhydrate und Fette, zum mindesten wenig unterrichtet. Daß Fettmangel (gemeint ist der chemische Begriff) die Nahrung insuffizient machen kann, ist außerordentlich unwahrscheinlich. Das reine Fett kann im Tierversuch ebenso insuffizient wirken wie andere reine Nährstoffe, was die sorgfältigen Versuche von Mc Collum und Davis[1]), sowie auch Stepp

W. Stepp, Ergeb. d. inn. Med. u. Kinderheilk. **15**, 1917 und F. Hofmeister, Erg. d. Physiol., herausg. von Asher und Spiro, 1918.

[1]) Journ. of biol. chemistry **15**, 167, 1914.

(l. c.) bewiesen haben. Andererseits wird wohl kaum jemand bezweifeln, daß der tierische und auch der menschliche Organismus spielend Fett synthetisch bilden kann. Das Zellfett geht möglicherweise überhaupt vor allem aus Kohlenhydraten hervor [Abderhalden[1]], aber auch über die Bedeutung der sogenannten „Lipoide“ für die Ernährung wissen wir nichts Genaueres und Sicheres, ist schon der Begriff als solcher von geradezu entmutigender Dehnbarkeit. Sollte es einen „Lipoidhunger“ geben, so müßten bei verschiedenen Tieren die synthetischen Fähigkeiten in bezug auf Lipoide sich außerordentlich verschieden verhalten. Fische (Miescher), Vögel [Fingerling[2]), Mc Collum[3])], diese letzteren sogar aus anorganischen Bestandteilen, sind zweifellos imstande, komplizierte Phosphatide in großen Mengen herzustellen. Daß das Säugetier dazu nicht befähigt sein soll, wird — soweit ich sehe — nur aus der Insuffizienz „lipoidfreier“ Nahrung geschlossen, was keinesfalls als stringenter Beweis gelten kann, zumal das direkte Gegenteil von Abderhalden[4]) für den Hund wahrscheinlich gemacht worden ist.

Wahrscheinlicher dagegen gestaltet sich die Möglichkeit, daß ein gewisses Mindestmaß von Kohlenhydraten für den Pflanzenfresser und den Omnivoren unentbehrlich ist, wenn auch dieser Nährstoff, wie hinreichend bekannt, sowohl aus Eiweiß als höchstwahrscheinlich auch aus Fett im Stoffwechsel entstehen kann. Tatsächlich weisen manche Beobachtungen der Pädiater darauf hin, daß, wie auch Aron hervorhebt, der Säugling mit kohlenhydratarmer Eiweißmilch nicht auf die Dauer zu erhalten ist. Dennoch hat die moderne Forschung über qualitative Insuffizienz der Nahrung bisher sehr wenig Rücksicht auf die qualitative Bedeutung der Kohlenhydrate genommen, denn die Tatsache, daß Malz ergänzende Eigenschaften haben kann, ist naturgemäß für diese Frage ohne Belang.

Überblicken wir nun das bisher Gesagte, so werden wir

---

[1]) Lehrbuch der physiologischen Chemie, 275, 1914.

[2]) Diese Zeitschr. **38**, 448, 1912.

[3]) J. C. Halpin und A. H. Drescher, Journ. of biol. chemistry, **13**, 219, 1912.

[4]) Zeitschr. f. physiol. Chemie **77**, 22, 1912.

zum Schlusse gezwungen, daß bis auf die Sonderstellung, die wir dem Eiweiß einräumen müssen, keine Veranlassung besteht, den zwei anderen Elementen der Nahrung: Kohlenhydraten und Fette (im chemischen Sinne) praktisch andere Bedeutung zuzuschreiben, als diejenige der Energieträger. Die Sonderstellung des Eiweißes ist aber seit langem bekannt und hinreichend durch sämtliche quantitative Ernährungslehren von allen Gesichtspunkten aus berücksichtigt worden. Sie haben sogar das Verdienst, den Begriff des „Eiweißminimums" eingeführt und gezeigt zu haben, daß wesentliches Überschreiten desselben keinen Sinn hat. Das Kohlenhydratminimum aufzustellen hat deshalb einen geringeren Wert, weil wir praktisch — einige, heutzutage aber schon recht seltene, dogmatische Säuglingsdiätetiker ausgenommen — wohl kaum in die Lage kommen, kohlenhydratarm oder gar -frei zu ernähren. Ähnlich steht es mit Fett. Sollte der Organismus tatsächlich einen gewissen unersetzbaren Bedarf an Fett haben — was, wie schon gesagt, recht unwahrscheinlich ist, so ist jedenfalls dieses Minimum so außerordentlich gering, daß es praktisch vernachlässigt werden kann. Selbstverständlich aber nur dann, wenn es äquicalorisch durch Kohlenhydrat ersetzt wird.

Diese Behauptung stützt sich auf die Beobachtungen, die wir während des Krieges an zahllosen fettarm, jedoch streng quantitativ ernährten, vorwiegend tuberkulösen Kindern in über Monate und Jahre ausgedehnten Massenernährungsversuchen machen konnten. Daß aber auch der Säugling mit außerordentlich geringen, praktisch ruhig zu vernachlässigenden Fettmengen durch Monate und zwar von der Geburt an auskommen und gedeihen kann, möge an der Hand folgender zwei Fälle, die wohl als erster Versuch systematischer, äußerst fettarmer Ernährung am Menschen gelten können (vgl. Aron, l. c.) gezeigt werden[1]).

Beide Fälle betrafen schwache Säuglinge minderwertiger Konstitution, die daneben von Anfang an mit pathologischen Komplikationen behaftet waren. Die fettarme Ernährung wurde sofort nach der Geburt (Neugeborenenstation der Uni-

[1]) Die Krankengeschichten konnten aus äußeren Gründen nicht ausführlich mitgeteilt werden, auch mußte die Veröffentlichung der Gewichtskurven unserer Fälle unterbleiben. Sie wird an einem anderen Ort erfolgen.

versitäts-Kinderklinik an der I. Frauenklinik) eingeleitet, da die Brustnahrung undurchführbar war, und nach der Aufnahme auf die Säuglingsabteilung der Klinik in derselben Weise fortgesetzt. Sie bestand aus extrem ausgeschleuderter Magermilch[1]), die bis auf den der Vollmilch äquicalorischen Brennwert mit Rohrzucker (gelegentlich sogar auf den doppelten Wert, entsprechend 8,5, bzw. 25,5 % Rohrzuckergehalt) ergänzt war, später auch aus mit Magermilch und Rohrzucker bereitetem Grießbrei von doppeltem Brennwerte als dem der Vollmilch. Die Berechnungen wurden nach den von v. Pirquet angegebenen Regeln durchgeführt und der Bedarf der aus der Sitzhöhe berechneten Ernährungsfläche angepaßt.

Das erste Kind Sukdoll Bartha, ein Mädchen von 2400 g Geburtsgewicht, stammte von äußerst heruntergekommenen, neuropathischen, tuberkulösen Eltern. Vater wahrscheinlich Alkoholiker, wandernder Musiker. Von der Geburt an bot das Kind das Bild eines schweren nervösen Brechers, worauf die ziemlich starke Gewichtsabnahme nach der Geburt zurückzuführen ist. Das anfänglich recht stürmische Speien ließ dennoch trotz rücksichtsloser Ernährung im Laufe der ersten Wochen wesentlich nach. Gewichtszunahme setzte mit dem 5. Lebenstage ein. Mit drei Wochen (die Mutter mußte wegen gynäkologischer Komplikationen so lange in der Klinik bleiben) wurde eine linksseitige Gonitis entdeckt und das Kind auf die Kinderklinik transferiert. Es verblieb hier ca. 10 Monate. Das Gedeihen des Kindes ließ volle sechs Monate nichts zu wünschen übrig, und das trotz des habituellen Erbrechens und vermehrter Stühle. (Gewichtszunahme bis zum vollendeten 6. Lebensmonat von 2400 auf 5180 g, mithin etwas über 15 g pro Tag.) Mit ca. 3 Monaten machte es eine kleine Verdauungsstörung durch, die wahrscheinlich durch an einem Tag sauer gewordene Milch ausgelöst wurde und sich durch heftige Steigerung des Erbrechens kundgab. (Einige drei Wochen vorher wurden einige Male Anfälle von Cyanose mit Schaum vor dem Munde beobachtet, die sich aber dann nicht mehr wiederholten.) Auf Zufütterung von Grießbrei setzte prompte Erholung ein. Die Gonitis heilte in einigen Wochen gänzlich aus, die Bildung des Fettpolsters und der Hautfarbe ließ nichts zu wünschen übrig. Dagegen kam es zu mäßiger Ausbildung der Rachitis, obgleich das Kind reichlich Freiluft und Sonne genoß. Pigment wurde reichlich gebildet. Auch kamen trotz der fettarmen Kost deutliche Zeichen der exsudativen Diathese zum Vorschein. Nach dem 6. Monat beginnt nun die Gewichtskurve sich zu verflachen, ganz ähnlich wie die Kurven der

[1]) Durchschnittlicher Fettgehalt um 0,01 %.

Aronschen butterlosen Ratten. Es tritt alsbald Gewichtsstillstand mit stärkeren Schwankungen ein, dann eine länger dauernde, langsame Abnahme. Ich bin nun nicht geneigt, die gleiche Ursache dafür verantwortlich zu machen. Und zwar deshalb nicht, weil ich für dieses Verhalten der Gewichtskurve völlig ausreichende Erklärung finden kann. Die fragliche Ernährungsstörung ist zweifellos auf Infektion zurückzuführen. Es wurde nämlich damals (Oktober 1917) eine grippenartige Infektion auf die Säuglingsabteilung eingeschleppt, die zu einer in vielfacher Beziehung interessanten Epidemie Anlaß gab[1]) und die sämtliche, auch die Ammenkinder durchzumachen hatten.

Bei dem uns jetzt beschäftigenden Falle rief sie — wie auch bei anderen Kindern — neben den katarrhalischen Erscheinungen auch solche von seiten des Verdauungstraktes hervor, die in gesteigertem Erbrechen und Appetitlosigkeit ihren Ausdruck fanden. Das Erbrechen bei diesem habituellen Brechkinde wurde so stark, daß es auch breiige Kost nicht behielt. Nach 270 Tagen fettarmer Kost wurde der Versuch abgebrochen. Der Einfluß gewöhnlicher, dem Alter entsprechender Nahrung war nicht zu sehen. Die Grippe klang langsam ab und mit ihr das Erbrechen und sonstige Erscheinungen. Die Gewichtskurve begann sich erst nach ca. einem Monat seit der Koständerung langsam zu erholen. Das Kind wurde Ende Januar 1918 mit 5530 g Gewicht entlassen. Durch die überstandene Infektion blieb es im Wachstum und Gewicht zurück. Die Wachstumskurven liefen der Gewichtskurve parallel. Die Erkundigungen am Anfang des laufenden Jahres (1919) ergaben, daß das Kind sich in Ungarn bei Verwandten in Kostpflege befindet, entsprechend groß sei, lauten und sprechen könne.

Der zweite Fall (Adler H.) betrifft eine debile Frühgeburt von 1900 g Anfangsgewicht. Mutter stark rachitisch und nervös. Intra partum akquirierte das Kind eine Oberschenkelfraktur, weshalb ein Extensionsverband angelegt wurde. Von der Geburt an wurde ähnlich wie bei dem ersten Falle Magermilch-Rohrzuckerernährung eingeleitet (Neugeborenenabteilung). Gewichtsabnahme nach der Geburt ließ sich infolge des Verbandes nicht feststellen. Nach ca. 2 Wochen wurde das Kind auf die Kinderklinik transferiert und weiter beobachtet. Die Fraktur heilte rasch aus, ebenso wie die Drucknekrose, die durch den Verband am Fuße verursacht wurde. Tadellose Callus- und Narbenbildung. Das Kind gedieh nun vollkommen normal durch etwa 3 Monate (100 Tage). Am 98. Lebenstage erreichte es 3860 g, nahm mithin durchschnittlich 20 g pro Tag zu. Entwicklung und Längenwachstum vollkommen entsprechend. Ausgezeichnete Fettpolsterbildung, normale Agilität, auch starke Pigmentbildung nach reichlich genossenen Sonnenbädern konnten beobachtet werden. Nach 100 Tagen kam es dennoch zur Störung des Gewichtsverlaufes. Die Ursache dafür läßt sich ebenfalls leicht auffinden. Sie ist identisch mit der bei dem

[1]) Sie soll demnächst von E. Nobel geschildert werden.

ersten Fall geschilderten. Beide Störungen fallen zeitlich zusammen; es handelt sich um dieselbe Grippeepidemie, durch die der erste Versuch gestört wurde. Da das zweite Kind jünger war, trat die Störung um ca. 3 Lebensmonate früher ein: einer der besten Beweise dafür, daß es sich nicht um Insuffizienz der Nahrung handelte. Die Infektion verlief bei der kleinen Frühgeburt schwerer, führte zu Bronchiolitis und einer Reihe von Rezidiven und wurde von Stuhlvermehrung, Erbrechen und Appetitlosigkeit begleitet. Alles das sind Momente, die die Störung des Wachstumsverlaufes hinreichend erklären. Einschaltung zunächst konzentrierterer, dann normaler fetthaltiger Kost änderte an der Sachlage nichts. Mit dem Ablauf der Grippe erholte sich auch die Gewichtskurve und stieg auch trotz Wiedereinschaltung der Magermilch bis zum Eintritt eines Rezidivs ungehindert weiter. Im Laufe des letzteren wurde der Versuch abgebrochen und das Klnd im 9. Lebensmonat mit 4100 g gesund entlassen. Die im Januar d. J. (1919) vorgenommene Nachuntersuchung (im 19. Lebensmonat) ergab mit Rücksicht auf die Verhältnisse (Frühgeburt, Rachitis, Kriegskost und mangelhafte häusliche Pflege) durchaus entsprechenden Befund. Auch in diesem Falle kam es unter unseren Augen zur Entwicklung diesmal viel stärker ausgeprägter Rachitis. Es ist aber unmöglich, diese Erscheinung mit der Fettarmut der Nahrung in Beziehung zu bringen, schon deshalb, weil wir Ähnliches auch unter tadellos gedeihenden Brustkindern beobachteten.

Beide Fälle sind vollkommen analog und auch eindeutig. Sie zeigen, daß es gelingt, Säuglinge — und in unseren Fällen handelte es sich um besonders debile, minderwertige Kinder — von der Geburt an mindestens über das erste Halbjahr hinaus praktisch fettfrei zu ernähren, wenn das Fett isodynam durch Zucker ersetzt wird. Weitere Versuche werden zeigen müssen, ob es überhaupt eine Zeitgrenze für fettlose Ernährung gibt. Darüber geben die geschilderten Fälle streng genommen, keinen Aufschluß. Es ist theoretisch wohl möglich, daß vielleicht nach einem Jahr fettarmer Ernährung plötzlich Störungen zur Beobachtung kämen, die sich nicht anders als durch Fettmangel erklären ließen. Doch wird mir jeder Unvoreingenommene zugeben, daß diese Annahme recht gezwungen und nicht wahrscheinlich wäre. Wenn noch 1915 behauptet wurde, daß „das Wachstum im 1. Lebensjahre hauptsächlich auf Kosten des angeborenen Körperbestandes unter vorwiegendem Wasseransatz erfolge“ (!)[1], so wird man mir dennoch glauben müssen, daß wenigstens das

[1]) Klotz, l. c., S. 146, wörtlich.

reichliche Fettpolster meiner Fälle weder aus dem angeborenen Körperbestande, noch aus Wasser, noch aus den minimalen Fettmengen, die mit der Nahrung zugeführt worden sind, entstehen konnte.

Jedenfalls können wir ruhig daran festhalten, daß praktisch das Fett (im chemischen Sinne) auch beim Säugling restlos durch Zucker ersetzt werden kann[1]). Es ist das eine wichtige theoretische Erkenntnis, ihr praktischer Wert wird aber gerade beim Säugling dadurch wesentlich eingeschränkt, daß wir hier höchstens bei der Behandlung der exsudativen Diathese nach Czerny das Bedürfnis empfinden dürften, fettlos zu ernähren.

Die Insuffizienz der Nahrung kann aber, wie Aron das richtig betont, nicht nur durch Mangel an organischen Bestandteilen in der Nahrung hervorgerufen werden. Der Mineralstoffwechsel, der Wasserstoffionenstoffwechsel und der Wasserstoffwechsel spielen im Haushalte des Organismus eine ebenso wichtige wie interessante und noch nicht völlig geklärte Rolle. So wichtig diese Faktoren für die rationelle Ernährung auch sind, haben sie dennoch das Eine gemeinsam, daß ihre willkürliche Regulierung bis auf das Wasser [vgl. E. Nobel][2]), vorläufig noch nicht auf quantitativer Basis erfolgen kann, sondern höchstens auf empirisch-qualitativem Wege nur ganz grober Beeinflussung zugänglich ist. In der überwiegenden Mehrzahl der Fälle ist aber auch ein aktives Eingreifen auf diesem Gebiete praktisch nicht notwendig, da erstens die natürliche Zusammensetzung unserer (gemischter) Nahrung den Erfordernissen des Organismus weitgehendst entspricht und zweitens, weil der Organismus gerade hier über Regulationsvorrichtungen verfügt, die höchstens bei extremen oder langdauernden gleichsinnigen Insuffizienzen im Stiche lassen[3]).

---

[1]) Sehr beachtenswert sind in den geschilderten Versuchen die nach den landläufigen Begriffen geradezu ungeheueren Mengen Zucker, die von den Kindern glatt vertragen wurden.

[2]) Zeitschr. f. Kinderheilk. 1919 (im Erscheinen).

[3]) Die aproximativen quantitativen Richtungslinien, die sich auf die Höhe des Durchschnittsbedarfes an Mineralstoffen beziehen, sind bereits 1906 von Albu und Neuberg („Physiologie und Pathologie des Mineralstoffwechsels", Berlin, Springer) erörtert worden. Die dem

Ähnliches gilt offenbar auch für die Ergänzungsstoffe.

Zunächst möge die praktische Bedeutung der partiell insuffizienten Nahrung für die Physiologie und Pathologie des Menschen mit einigen Worten gewürdigt werden. Wir können mit absoluter Sicherheit bisher nur zwei Krankheiten des Menschen als reine „Avitaminosen“ [1]) bezeichnen: Skorbut und Beriberi. Höchstwahrscheinlich gehört dazu noch Pellagra, die aber zum Teil sicherlich auch als eine „Photose“ aufzufassen ist. Die beiden letzteren kommen durch einseitige Ernährung mit vorwiegend einem Nahrungsmittel zustande. Sie lassen sich daher mit relativer Leichtigkeit bekämpfen. Viel tückischer ist dagegen Skorbut. Hier kommt es auf die Frische der Nahrung an. Diese kann unserer Aufmerksamkeit viel leichter entgehen, wie das beim Skorbut der Säuglinge oft der Fall ist. Dennoch, bei dem jetzigen Stand der Lehre von den Avitaminosen wird es uns nicht mehr schwer fallen, einen Skorbut oder einen Barlow auch prophylaktisch zu verhüten. Sogar dann, wenn uns frische Nahrungsmittel gänzlich fehlen sollten — einfach durch Darreichung eines „Vitaminträgers“, der keinen Nährwert und auch keinen Preis zu haben braucht, so z. B. wie das Walter Tobler [2]) an der hiesigen Klinik durch Darreichung von „Tannennadeltee“ getan hat.

Halten wir Umschau nach weiteren gefährlichen Avitaminosen des Menschen und besonders des Kindes und des Säuglings, so entdecken wir zu unserer Überraschung außerordentlich wenig hierhergehörige Krankheitsbilder, wenn wir nicht mit Funk der schöpferischen Phantasie vollen Lauf geben. Wahrscheinlich hätten wir nur bei dem Mehlnährschaden Czernys mit einer partiellen Insuffizienzerscheinung zu tun. Auch mit diesem Symptomenkomplex werden wir aber leicht fertig. Dagegen ist schon außerordentlich unwahrscheinlich, daß die Rachitis hierher gehöre. Tut sie das, so könnten wir praktisch bis auf weiteres nichts damit anfangen.

Was die Bedeutung der Lipoide für den Menschen anbetrifft, so sind wir nicht einmal darüber unterrichtet, wie sich der menschliche Organismus zum Lipoidmangel verhalten würde, da wir lipoidfreie Ernährung beim Menschen nicht kennen. Tierversuche erlauben uns auf die Verhältnisse beim Menschen keinen Rückschluß. Man hat ja zur

---

Werk beigegebenen Tabellen erlauben rasche Orientierung über die Mineralstoffzusammensetzung der menschlichen Nahrungsmittel. Doch heben auch diese Autoren die Schwierigkeiten bei der quantitativen Fassung des Mineralstoffwechselproblems hervor. Es kommt ja hier z. T. auch auf Wirkungen an, die wir noch nicht übersehen können (Energieübertragung, Katalyse usw.) und die gerade für die Lehre von den Ergänzungsstoffen von großer Bedeutung sein dürften.

[1]) Der Ausdruck wird hier bequemlichkeitshalber generell für sämtliche Störungen, die auf Mangel akzessorischer Nährstoffe zurückgeführt werden, gebraucht.

[2]) Zeitschr. f. Kinderheilk. 1918.

Genüge gesehen, daß eine und dieselbe Nahrung für eine Tierspezies ausreichend, für eine andere dagegen insuffizient sein kann. Daher besteht z. B. Aron mit Unrecht darauf, die Ergebnisse seiner Rattenversuche auf Menschen zu übertragen. Das gleiche gilt von allen Ergebnissen der einschlägigen Tierversuche, die sich mit den Erfahrungen am Menschen nicht decken.

Dagegen lehrt uns die tägliche Erfahrung und hat besonders noch der Krieg gelehrt, daß praktisch die wichtigsten und die häufigsten Fehler der Ernährung quantitativer Natur seien. Hat vor dem Kriege Überfütterung eine große Rolle gespielt, so haben wir jetzt mit tragischer Deutlichkeit die Bedeutung der Unterernährung, des Eiweiß- und Calorienmangels kennen gelernt. Theoretisch sind beide gleich wichtig. Falsch ist jedoch, wenn man glaubt, daß die quantitativ unzureichende Ernährung auch bei künstlich genährten Säuglingen schon vor dem Kriege keine Bedeutung gehabt hat[1]). Einer der Verdienste des Systems von Pirquet ist, gezeigt zu haben, daß das Gros der Ernährungsstörungen auch des Säuglingsalters auf quantitative Ernährungsfehler zurückzuführen ist[2]). Erst in zweiter Linie und verhältnismäßig viel seltener kommen eventuell qualitative Ernährungsfehler in Betracht. Ähnliches kann man von den Erwachsenen behaupten. Von den Ernährungskrankheiten sahen wir im Kriege hauptsächlich Hungerkrankheiten. Skorbut war relativ seltener. Ödemkrankheit ist öfters als Avitaminose aufgefaßt worden, ohne jedoch den strikten Beweis dafür zu erbringen. Tatsache ist aber, daß die Hungerödeme bei calorisch ausreichender Kost — soweit ich es als Kinderarzt beurteilen kann — kaum je vorgekommen ist. Osteoporose ist sicherlich ebenfalls eine Hungererscheinung. Die wahre Hunger-Kriegskrankheit ist aber die Tuberkulose geworden, die die Bedeutung der wichtigsten Volksseuche erlangt hat.

Das Wichtigste ist nun, daß allen diesen Erscheinungen

---

[1]) Wenn Klotz (l. c., S. 173) behauptet, daß „bei künstlich mit Kuhmilch genährten Kindern eine Unterernährung normalerweise kaum je beobachtet wird“ (!), so widerspricht er sich selbst, indem er in der Fußnote dazu bemerkt: „Nur bei psychopathischen Säuglingen und im Proletariat“ (von mir gesperrt).

[2]) Ich verweise auf das allmählich zur Veröffentlichung gelangende überwältigende Tatsachenmaterial der Pirquetschen Schule.

praktisch nur die quantitative Ernährungstherapie entgegentreten kann, besonders dann, wenn sie mit Mitteln ausgerüstet ist, auch in die Massen einzugreifen. Ich habe als Erster zielbewußte, auf breite Basis gestellte, rationelle, quantitative Ernährungsfürsorge, wie sie durch das Pirquetsche System methodisch ermöglicht wurde, gefordert[1]). Seither haben wir Gelegenheit gehabt, Tausende von Kindern in großen Massen quantitativ zu ernähren, wie das wohl bisher nie der Fall gewesen ist, und wir können stolz auf unsere Erfolge sein. Avitaminosen haben wir kaum beobachtet. Sie lassen sich eben ohne große Schwierigkeiten vermeiden und die Wahrscheinlichkeit, ihnen zu begegnen, vermindern sich von selbst im selben Maße, in dem die systemisierte, ärztlich geleitete Ernährung einsetzt. Diese ist aber nur mit Hilfe eines quantitativen Nährwertbegriffes durchführbar. Es ist keine Kunst, beim Überfluß von Nahrungsmitteln die Ernährung, zumal bei Gesunden, qualitativ einzurichten. Dort, wo es sich aber um Appetitlosigkeit und Nahrungsknappheit handelt, muß der Arzt wissen, nicht nur was, sondern auch wieviel als Nahrung zu verschreiben ist. Auch wäre es verfehlt, eine Avitaminose allein mit „Sondernährwerten" zu ernähren, ohne dabei auf den calorischen Bedarf zu achten, mindestens ebenso verfehlt, wie das Umgekehrte der Fall wäre. Das Erste ist aber leichter möglich, denn ein die quantitative Ernährungslehre beherrschender Arzt ist sicherlich auch so weit, daß er „Sondernährwerte" unterscheiden kann.

Die Bedeutung der qualitativen Seite der Ernährung soll keinesfalls geschmälert werden. Aber die Wahl der Qualitäten der Nahrung — und als solche sind nicht nur die chemischen, sondern auch die physikalischen, hygienischen und ökonomischen zu berücksichtigen — kann erst nach der Feststellung und im Rahmen des optimalen Tagesbedarfes an Energie erfolgen.

Es ist daher sicherlich zu weitgehend, wenn ein auf dem Gebiete der Ernährungsforschung so verdienter Autor, wie Hans Aron in dem übrigens begreiflichen Eifer, den zweifellos sehr wichtigen und keinesfalls zu verkennenden Forschungsergebnissen der letzten Jahre besondere

[1]) Zeitschr. f. Kinderheilk. 18, 1918.

Geltung zu verschaffen, die Bedeutung der Qualität für die Ernährung in erster Linie berücksichtigt haben will. Aron sagt: „Es läßt sich nicht in Abrede stellen, daß die Einführung des Begriffes Sondernährwert zu einer derartigen Umwälzung des Begriffes Nährwert führt, daß wir fortab den Nährwert einer Nahrung oder eines Nahrungsmittels nicht mehr in einfachen Zahlen ausdrücken können.“ Dagegen muß man betonen, daß der Begriff „Sondernährwert eines Nährstoffes“, so wie ihn Aron definiert: als „Ausdruck derjenigen besonderen Wirkung, die nur von diesem Nährstoff ausgeübt werden kann und die im Gegensatz zu der Wirkung als Brennstoff durch andere Nährstoffe sich nicht ersetzen läßt“ — zu großen Unklarheiten Veranlassung geben kann. Nährstoffe, bis auf Eiweiß, haben praktisch keinen Sondernährwert, Sondernährwert können nur Nahrungsmittel haben. Daher ist auch nicht angängig, davon zu reden, daß „Nahrungsfett nicht restlos durch Kohlenhydrate in der Nahrung ersetzt werden kann“, denn die tägliche Erfahrung lehrt experimentell am Menschen gerade das Gegenteil. Man könnte, um diesem Mißverständnis vorzubeugen, nur sagen, daß Fettträger unter den Nahrungsmitteln Substanzen enthalten können, die für das Leben unentbehrlich sind. Ich behaupte nicht, daß Aron es nicht so gemeint hat, doch nur, daß seine Ausdrucksweise anders gedeutet werden kann und diese Deutung ist gefährlich. Ebenso unrichtig ist es, zu behaupten, daß der Nährwert vieler vegetabilischer Nahrungsmittel sich nicht nach der Calorienzahl einschätzen läßt. Diesen Nahrungsmitteln kommt sicherlich große Bedeutung als „Sondernährwertträgern“ zu, dennoch ist die Kenntnis ihres Brennwertes ebenso unerläßlich schon mit Rücksicht auf ihre Bedeutung für das Nahrungsvolumen.

Gegen die Einführung des „Sondernährwertes“ als qualitativen Begriffes, der uns an die Bedeutung der akzessorischen Nährstoffe erinnern und mahnen soll, ist natürlich nichts einzuwenden. Doch soll er nicht versuchen, die Bedeutung der quantitativen Seite des Nährwertbegriffes zu schmälern, denn jene gehört zu den positivsten und bedeutsamsten Erkenntnissen der Biologie.

Der einzig gangbare Versuch, den Nährwert quantitativ in sämtlichen Qualitäten darzustellen, ist von v. Pirquet gemacht worden. Der Nemwert ist eine physiologische Nährwerteinheit, die theoretisch nicht nur die Calorienmenge eines Grammes Frauenmilch darstellt, sondern auch alles das umfaßt, was der Milch, als für den Menschen vollwertigstem Nahrungsmittel, eigen ist. Auch ist von v. Pirquet bereits der Weg vorgezeichnet worden, auf dem man zu den wahren Nemwerten — nicht den aus der

Calorienzahl berechneten — gelangen könnte. Es ist das das Ersatzverfahren. Es ist aber klar, daß Versuche, die tatsächlich ermitteln sollten, inwiefern sämtliche Nahrungsmittel den vollwertigen Nährwert der Milch ersetzen können nicht nur äußerst schwierig, sondern auch langwierig sind. Inzwischen mußte ein Ersatz geschaffen werden. Und dieser ist der aktuelle Nemwert.

Gegen die quantitative Ernährungslehre lassen sich noch andere, zum Teil recht verwandte Einwürfe machen. Zu solchen gehört z. B. die Lehre von der Korrelation der Nahrungsstoffe (Langstein).

Die Lehre von den Ernährungsstörungen ex correlatione spielt in der Pädiatrie eine sehr große Rolle [vgl. Bessau[1]]. Es würde mich zu weit führen, auf dieses heiß umstrittene Kapitel näher einzugehen. Wie Bessau selbst betont, ist die praktisch-klinische Trennung der Störungen ex quantitate und ex correlatione so gut wie undurchführbar. Die allgemeine Stoffwechselpathologie zeigt, daß nur ganz grobe Korrelationsverschiebungen merkliche Störungen hervorrufen. Demgegenüber sollen schon die geringfügigsten Änderungen in der Korrelation der Nahrungsstoffe auf den Säugling spezifisch einwirken. „Daß diese einen direkten Einfluß auf den intermediären Stoffwechsel auszuüben vermögen, dafür fehlt uns einstweilen schlechterdings jede Vorstellungsmöglichkeit“ (Bessau, l. c.). Daher kommt Bessau zu der Überzeugung, daß die Störungen ex correlatione auf indirektem Wege durch Beeinflussung der bakteriellen Vorgänge im Darm hervorgerufen werden („Gärnährschaden“ und „Faulnährschaden“). Ohne mich auf die Kritik dieser letzteren Anschauung hier einzulassen, will ich nur hervorheben, daß damit auch die Bedeutung der Korrelation einzelner Nährstoffe für unsere Frage prinzipiell abgetan ist.

Experimentell liegt über die wahre Bedeutung der Korrelation der Nährstoffe für den Ernährungserfolg meines Wissens nur eine Arbeit von Tachau[2]) aus dem Hofmeisterschen Institute vor. Dieser Autor konnte zeigen, daß Mäuse, die, mit Kommißbrot ernährt, sehr gut gedeihen, starben, wenn dasselbe Brot mit Zucker oder Fett getränkt wurde. Diese Versuche lassen aber nur eine Deutung zu, und diese geht aus den Protokollen Tachaus klar hervor, daß nämlich durch starke Erhöhung des Nährwertes der Nahrung auf Kosten der Brennstoffe ihr Eiweißgehalt unter das für Mäuse notwendige Mini-

[1]) Monatsschr. f. Kinderheilk. 13, 431, 1916.

[2]) Diese Zeitschr. 65.

mum herabgedrückt wurde. Ähnliches Vorgehen ist geradezu ideal geeignet, das Eiweißminimum quantitativ festzustellen (vgl. darüber die bald erscheinenden Versuche von Schick über das Eiweißminimum des Neugeborenen).

Endlich sei hier schon aus historischen Rücksichten der heftigen Polemik gedacht, die der geistvollste aller Gegner der Calorienrechnung und des Isodynamiegesetzes Max Kassowitz[1]) gegen die Münchner Schule und besonders gegen Rubner geführt hat.

Manches darin ist bereits überholt, doch die Lektüre dieser äußerst lebendigen, mit ungewöhnlichem Wissen ausgestatteten Ausführungen mutet noch heutzutage vielfach recht frisch an, namentlich wenn man bedenkt, daß sie während der Blütezeit der Calorienlehre geschrieben worden sind. Seine Anschauungen über Metabolismus äußerst lebhaft verfechtend, hat dieser temperamentvolle Autor vieles vorausgeahnt — auch die Vitamintheorie.

Ein Einwand Kassowitz' gegen Rubner ist von derartiger Sachlichkeit, daß er nicht übergangen werden kann. An der Hand Rubnerscher Protokolle zeigte Kassowitz, daß der experimentelle Nachweis des Isodynamiegesetzes Rubner nicht gelungen ist. Tatsächlich kann man sich von diesem Eindrucke schwer befreien, wenn man die sämtlichen diesbezüglichen Protokolle kritisch gesichtet hat. Und dennoch hat Rubner recht gehabt. Ist ihm der glatte experimentelle Nachweis des erfaßten Naturgesetzes vielleicht auch wirklich nicht vollkommen geglückt, so kann er auf die Erfahrungen der quantitativen Ernährungstherapie hinweisen, die tagtäglich das Isodynamieprinzip in voller Gültigkeit offenbart. Nur hat die Praxis eine Korrektur an der Fassung dieser wichtigen Erkenntnis beigebracht: Das Isodynamieprinzip kann vielleicht in seiner Gültigkeit nicht unwesentlich eingeschränkt werden, wenn es sich um die Vertretung äquicalorischer „reiner" Nährstoffe handelt, es trifft aber innerhalb sehr großer Grenzen mit voller Sicherheit zu, sobald die Nahrungsmittel äquicalorisch ausgetauscht werden.

---

[1]) Allgemeine Biologie. M. Perles, Wien 1899.

Zusammenfassung.

1. Die quantitative Seite des Nährwertbegriffes, ausgedrückt in der vorläufig einzig zugänglichen Weise durch den Gehalt der Nahrung an Gesamtenergie, hat nach wie vor und ungeachtet der Ergebnisse der Lehre von den Ergänzungsstoffen die wichtigste praktische Bedeutung und kann durch annähernde Bestimmung des minimalen Bauwertes, sowie durch Beachtung des Sondernährwertes der Nahrung ergänzt, keinesfalls jedoch ersetzt werden.

2. Die letztgenannten Faktoren beziehen sich in erster Linie auf die Bewertung und Dosierung der Eiweißkörper, ferner auf die Wahl der Nahrungsmittel im Rahmen des optimalen Tagesbedarfes an Energie.

3. Die Bedeutung der Fette und Kohlenhydrate (als Nährstoffe im chemischen Sinne) ist für die Praxis ausreichend genau durch den Brennwert charakterisiert.

4. Das theoretische Fettminimum des menschlichen Säuglings, wie es an der Hand von zwei Ernährungsversuchen gezeigt wird, ist jedenfalls so klein zu veranschlagen, daß es entgegen der verbreiteten Ansicht praktisch vernachlässigt werden kann.

5. Das Isodynamiegesetz Rubners ist nach wie vor als Grundstein der praktischen Ernährungslehre aufzufassen, besonders unter Hinweis auf die Bedeutung gegenseitiger Vertretung äquicalorischer Mengen nicht der theoretischen Nährstoffe, sondern der Nahrungsmittel.

Zur Frage der experimentellen Beeinflussung des Kalkgehaltes des Blutes.

Von

Julius Freund.

(Eingegangen am 15. April 1919.)

Zur interessanten Arbeit von W. Heubner und P. Róna[1]) möchte ich nur kurz bemerken, daß Fenyvessy und ich vor längerer Zeit[2]) das rasche Verschwinden intravenös applizierten Chlorcalciums festgestellt haben. Bei unseren Versuchen waren schon nach 5 Minuten etwa 90% des eingeführten Calciums verschwunden.

---

[1]) W. Heubner und P. Róna, diese Zeitschr. **93**, 187.

[2]) Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. experim. Ther. **18**, 666, 1913.

Druckfehlerberichtigungen.

In der Arbeit von Neuberg und Hirsch, diese Zeitschr. Bd. **96**, 1919, Seite 176, Zeile 13 von oben muß es heißen:

$CH_3 \cdot CO \cdot COOH$

statt

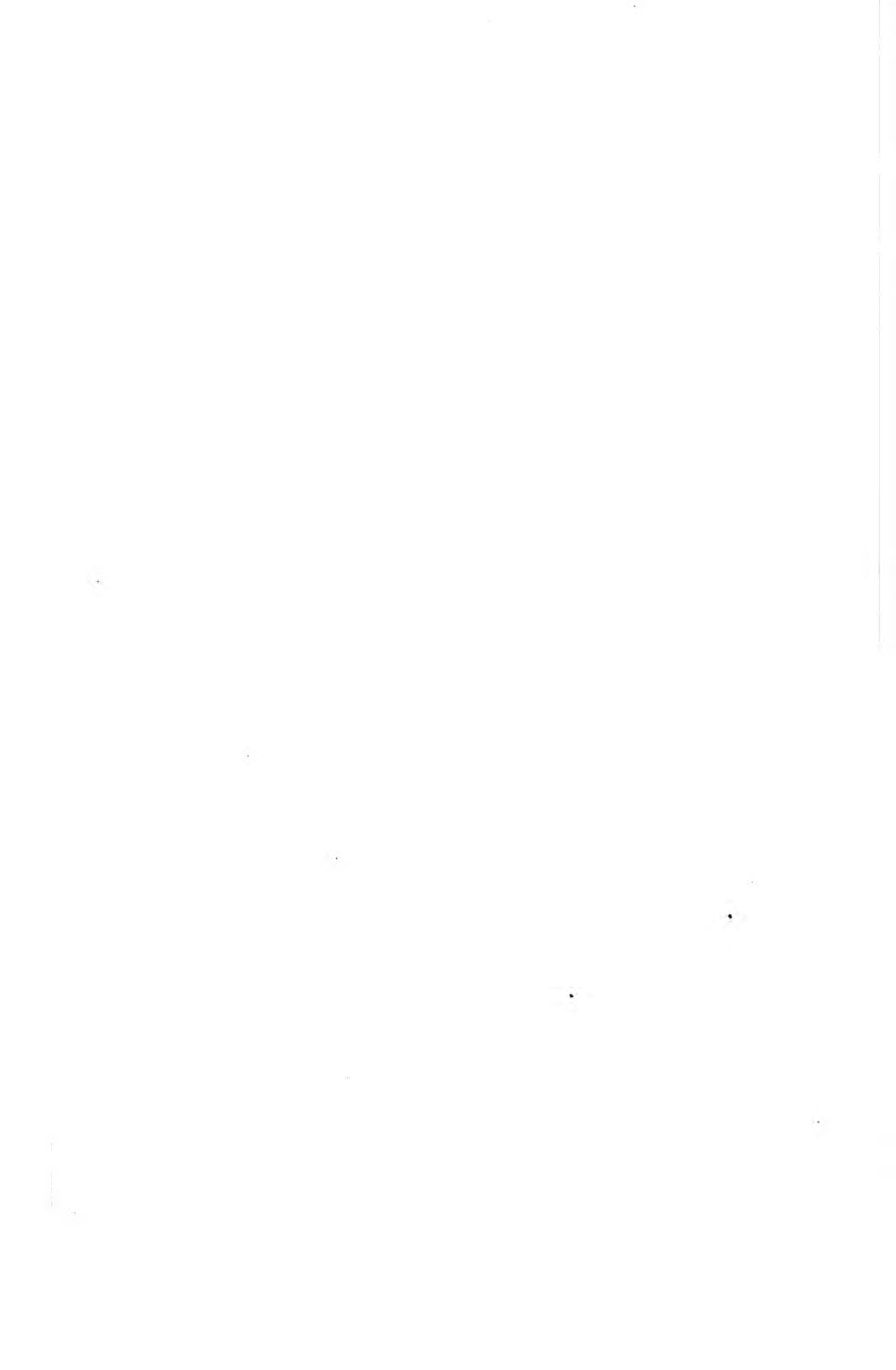
$CH_3 \cdot CO \cdot COH$.

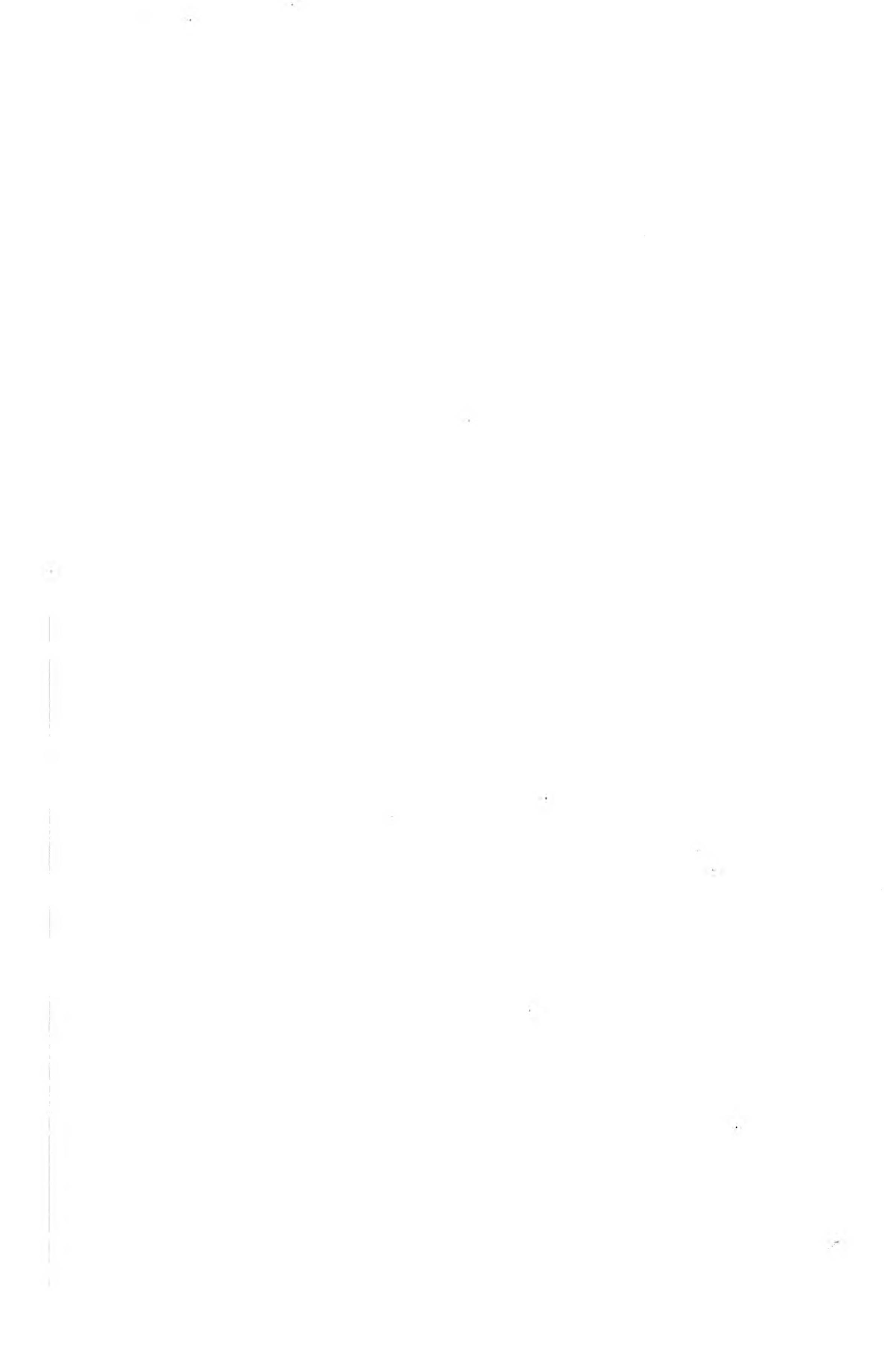
In der Mitteilung von W. Lasch, diese Zeitschr. Bd. **97**, Seite 1, Zeile 5 muß es heißen:

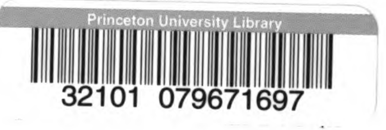
Eiereiweiß statt Eiweiß.

Autorenverzeichnis.

Druck von Oscar Brandstetter, Leipzig.






Princeton University Library
32101 079671697